

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE CIENCIAS FÍSICAS
DEPARTAMENTO DE FÍSICA APLICADA III



TESIS DOCTORAL

**Perfiles biomagnéticos de la actividad en reposo cerebral en
las fases preclínica y prodrómica de la Enfermedad de
Alzheimer:**

influencia del alelo *APOE-ε4* y de la acumulación de *β-amiloide*

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

Pablo Cuesta Prieto

Directores

Miguel Sancho Ruiz
Akinori Nakamura
Fernando Maestú

Madrid, 2015

Universidad Complutense de Madrid

Facultad de CC Físicas

Departamento de Física Aplicada III



Tesis Doctoral

Perfiles biomagnéticos de la actividad en reposo cerebral en las fases preclínica y prodrómica de la Enfermedad de Alzheimer. Influencia del alelo APOE- ϵ 4 y de la acumulación de β -amiloide.

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR
PRESENTADA POR

Pablo Cuesta Prieto

Directores

Miguel Sancho Ruiz

Akinori Nakamura

Fernando Maestú

Madrid, 2015

Universidad Complutense de Madrid

Facultad de CC Físicas

Departamento de Física Aplicada III



Tesis Doctoral

Perfiles biomagnéticos de la actividad en reposo cerebral en las fases preclínica y prodrómica de la Enfermedad de Alzheimer. Influencia del alelo APOE- ϵ 4 y de la acumulación de β -amiloide.

Tesis Doctoral
por

Pablo Cuesta Prieto

Directores

Miguel Sancho Ruiz

Akinori Nakamura

Fernando Maestú

Madrid, 2015

Universidad Complutense de Madrid

Facultad de CC Físicas

Departamento de Física Aplicada III



Biomagnetic profiles of brain's resting state activity in the preclinical and prodromical stages of the Alzheimer's Disease. Influence of APOE- ϵ 4 allele and β -amyloid accumulation.

Ph.D. Thesis
by

Pablo Cuesta Prieto

Supervisors

Miguel Sancho Ruiz

Akinori Nakamura

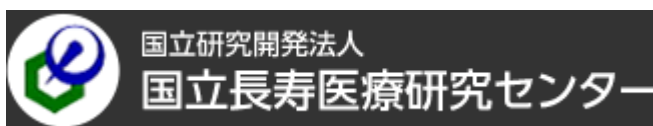
Fernando Maestú

Madrid, 2015

Esta tesis doctoral ha sido llevada a cabo en los Departamentos de Física Aplicada III y de Psicología Básica II, de la Universidad Complutense de Madrid bajo la supervisión del catedrático Miguel Sancho Ruiz y del profesor Fernando Maestú Unturbe. Los primeros dos estudios que componen esta memoria han sido realizados en el Laboratorio de Neurociencia Cognitiva y Computacional, un laboratorio de nueva creación compartido por las universidades Politécnica y Complutense de Madrid, situado en el Centro de Tecnología Biomédica.

Los dos últimos estudios han sido realizados en colaboración con el grupo del profesor Akinori Nakamura del National Center for Geriatrics and Gerontology (NCGG), situado en Obu-shi, Japón. Así mismo, se ha colaborado con el grupo del profesor Joydeep Bhattacharya del Goldsmiths College, University of London, y con el grupo del profesor Srikantan Nagarajan de la University of California at San Francisco.

La financiación para la realización de esta tesis ha sido obtenida del Ministerio de Economía y Competitividad (proyecto: PSI2009-14415-C03-01 y beca FPI: BES-2010-036469)



SECRETARÍA DE ESTADO
DE INVESTIGACIÓN,
DESARROLLO E
INNOVACIÓN

ÍNDICE

<i>Agradecimientos</i>	13
<i>Lista de Abreviaturas</i>	15
<i>Lista de Figuras</i>	19
<i>Lista de Tablas</i>	25
<i>Thesis Summary</i>	27
<i>Introduction</i>	27
<i>Goals and hypotheses</i>	27
<i>Results</i>	28
<i>Discussion</i>	30
<i>Resumen de la Tesis</i>	33
<i>Introducción</i>	33
<i>Objetivos e hipótesis</i>	34
<i>Resultados principales</i>	35
<i>Discusión</i>	36
<i>1- Introducción</i>	41
1.1 <i>Escalas de la actividad cerebral</i>	41
1.1.1 <i>Microescala: Neurobiología</i>	41
Células del sistema nervioso.....	42
Origen de los campos electromagnéticos neuronales: comunicación neuronal	45
1.1.2 <i>Mesoescala: Neuroimagen</i>	49
Campos electromagnéticos cerebrales	49
Bandas de frecuencia	51
Magnetoencefalografía	52
Resonancia Magnética Nuclear	59
Tomografía por emisión de positrones.	61
Comparativa de las diferentes técnicas de neuroimagen	63
1.1.3 <i>Macroescala: Neuropsicología</i>	64
Funciones Cognitivas	64

Test neuropsicológicos	67
1.2 Demencia y Enfermedad de Alzheimer.....	69
1.2.1 Envejecimiento no Patológico	69
Cambios cognitivos “normales” asociados a la edad	70
Cambios neurobiológicos “normales” asociados a la edad	71
Cambios en la actividad cerebral “normales” asociados a la edad	73
1.2.2 Factores de Riesgo.....	75
Edad	75
Enfermedad de Alzheimer hereditaria	75
Historial Familiar.....	75
Alelo APOE-ε4	75
Quejas Subjetivas de Memoria	77
Deterioro Cognitivo Leve	78
Factores de riesgo cardiovasculares	78
Traumatismos craneoencefálicos.....	79
Reserva Cognitiva.....	79
1.2.3 Patología de la Enfermedad de Alzheimer	80
Cambios neurológicos	80
Cambios en neuroimagen	83
Cambios neurocognitivos	87
1.2.4 Criterios Diagnósticos y Cronograma de la Enfermedad.....	88
2- Métodos.....	91
2.1 Registro MEG	91
2.2 Pre-procesado.....	93
2.3 Análisis.....	96
2.3.1 Marcos de trabajo	96
Análisis en sensores del sistema MEG	98
Análisis en el espacio de fuentes generadoras	99
2.3.2 Metodologías.....	108
Análisis cuasi-estático: caracterización espectral.....	108
Análisis dinámico: sincronización y conectividad funcional	109

Análisis estructural: MRI y PET	114
Determinación genotipo APOE	115
2.4 <i>Evaluación Estadística de los resultados</i>	115
3- Resultados.....	119
3.1- <i>Análisis en el espacio de fuentes de la actividad espontánea medida con MEG en envejecimiento sano y deterioro cognitivo leve. Influencia del alelo APOE-ε4.</i>	119
3.1.1 Objetivos e Hipótesis	119
3.1.2 Métodos.....	119
3.1.3 Resultados.....	122
3.1.4 Conclusiones	129
3.2 <i>Influencia del alelo APOE-ε4 y del diagnóstico de DCL en la disrupción de la conectividad funcional en el espacio de fuentes de la actividad en reposo cerebral medida con MEG.</i>	131
3.2.1 Objetivos e Hipótesis	131
3.2.2 Métodos.....	131
3.2.3 Resultados.....	134
3.2.4 Conclusiones	139
3.3- <i>Neuroimagen Multimodal MEG PiB-PET en las fases preclínicas y prodrómicas de la Enfermedad de Alzheimer.</i>	141
3.3.1 Objetivos e Hipótesis	141
3.3.2 Métodos.....	141
3.3.3 Resultados.....	144
3.3.4 Conclusiones	149
3.4 <i>El daño sináptico precede a la neurodegeneración en ancianos cognitivamente sanos con neuropatología de amiloide positiva. Estudio multimodal MEG PiB-PET.</i> ..	151
3.4.1 Objetivos e Hipótesis	151
3.4.2 Métodos.....	151
3.4.3 Resultados.....	154
3.4.4 Conclusiones	157
4- Discusión General.....	159
4.1 <i>Caracterización espectral de la influencia del alelo APOE-ε4</i>	160

4.2	<i>Caracterización dinámica de la influencia del alelo APOE-ϵ4</i>	161
4.3	<i>Caracterización espectral de la influencia de la acumulación de Aβ</i>	162
4.4	<i>Caracterización dinámica de la influencia de la acumulación de Aβ</i>	163
	<i>Conclusiones</i>	165
	<i>Conclusions</i>	169
	<i>Limitaciones</i>	171
	<i>Direcciones Futuras</i>	173
	<i>Referencias</i>	175
	<i>Artículos del Autor</i>	205

Agradecimientos

Esta tesis es el colofón a un viaje, el más intenso y largo de mi vida hasta el momento. Como en cualquier viaje ha habido buenos, regulares y malos momentos, todos y cada uno de ellos irrepetibles, una suma de coincidencias que me ha llevado en volandas hasta el lugar y el tiempo en el que escribo estas palabras.

Quiero empezar por mi familia porque con ella comenzó el viaje, siempre acompañado y querido. Muchas gracias a todas y a todos, os quiero mucho, lo mejor que sé y con la ilusión de seguir aprendiendo a hacerlo mejor. En especial, muchas gracias mama y muchas gracias Fátima. Y papa donde quiera que estés esto también es para ti.

Muchas gracias a mi otra familia, que se halla en proceso de expansión demográfica y que ya no se limita únicamente a Segovia. Por todos los buenos momentos y en especial por aquellos en los que no me quitasteis el carnet aun no siendo el socio más fácil del club.

No me olvido de todos los físicos y físicas que siempre han tenido sus brazos abiertos en mi larga travesía. Por el aliento y la fe cuando fueron necesarios, por cada pase y cada parada, tanto dentro como fuera del campo.

Muchas gracias Miguel. Tu generosidad me abrió una puerta a un nuevo mundo. Eres una de las mejores personas que he conocido.

Al primer riojano. Una persona sensacional, con la visión de juego más sabia y el corazón más grande.

Muchas gracias Fernando. Por tu valentía, energía e ilusión, que generan continuamente espacio y tiempo.

A todos los compañeros y compañeras del laboratorio. Hemos vivido mil circunstancias, muchas sonrisas y algunas lágrimas pero creo que siempre aprendiendo los unos de los otros. Saliendo adelante a pesar de las dificultades o el esfuerzo. Muchas gracias de todo corazón.

Muchas gracias a las personas que en un momento u otro han formado parte del laboratorio de biofísica. Una isla de conocimiento desde la que siempre ha sido posible avanzar hacia el futuro.

Thank you very much to Prof. Joydeep bhattacharya and Prof. Srikantan Nagarajan for receiving me so gently and kindly, providing me a wonderful place for working during my

stays in London and San Francisco. A special greeting for Naomi Kort, for your joy and hospitality.

どうも 有難う 御座います Prof. Akinori Nakamura. Visiting Japan has been one of the richest experiences of mi life. Thank you very much to all the members of your team. For your generosity and hospitality. All of you are more than invited to Spain!!

Y muchas gracias a la primera riojana. Por hacer fácil lo más difícil y por creer y arriesgar más allá de cualquier miedo. La mejor compañera en el viaje más importante.

En definitiva, muchas gracias por compartir el viaje.



¡Hasta pronto!

Lista de Abreviaturas

Usada en el texto escrito en Español	Usada en el texto escrito en Inglés	Nombre
ADAS	ADAS	Escala Evaluación de la Enfermedad de Alzheimer
APOE	APOE	Apoliproteína E
A β	A β	B-Amiloide
BHE	BHE	Barrera Hematoencefálica
CT	CT	Tomografía Computarizada
DCL	MCI	Deterioro Cognitivo Leve
DeIR	DeIR	Unidades Demoradas
DMN	DMN	Red cerebral por defecto
DTI	DTI	Imagen Tensor Difusión
EA	AD	Enfermedad de Alzheimer
EC	EC	Conectividad Efectiva
EEG	EEG	Electroencefalografía
FC	FC	Conectividad Funcional
FDG	FDG	Fluor-Desoxi-Glucosa
FIR	FIR	Filtro Respuesta Finita
fMRI	fMRI	Resonancia Magnética funcional
fT	fT	Femtotesla
FTLD	FTLD	Demencia Fronto-Temporal
HFR	HFR	Rango de Alta Frecuencia
ImmR	ImmR	Unidades Inmediatas
IWG	IWG	Grupo Internacional de Trabajo en Alzheimer
Hz	Hz	Herzio
LCR	CSF	Líquido Cefalorraquídeo
LFR	LFR	Rango de Baja Frecuencia
LHV	LHV	Volumen Hipocampo Izquierdo
LM1/LM2	LM1/LM2	Puntuación de Memoria Corto/Largo Plazo
mcSUVR	mcSUVR	Valor de captación estándar promediado en la corteza cerebral
MEG	MEG	Magnetoencefalografía

MMSE	MMSE	Mini Mental State Examination
MNI	MNI	Instituto Neurología Montreal
MRI	MRI	Resonancia Magnética Nuclear
mtmfft	mtmfft	Multitaper Frequency transformation
NFT	NFT	Ovillos Neurofibrilares
PET	PET	Tomografía por Emisión de Positrones
PhonF	PhonF	Fluencia Fonética
PiB	PiB	Pittsburgh Compound B
pT	pT	Picotesla
QSM	SMC	Quejas Subjetivas de Memoria
pTau	pTau	Phospho-Tau
NIA-AA	NIA-AA	Instituto Nacional de Envejecimiento, Asociación de Alzheimer
RHV	RHV	Volumen Hipocampo Derecho
ROI	ROI	Región de Interés
SemF	SemF	Fluencia semántica
SQUID	SQUID	Dispositivos superconductores de interferencia cuántica
SSS	SSS	Signal Space Separation
SUV	SUV	Valor de captación estándar
tSSS	tSSS	Temporo-SSS
VaD	VaD	Demencia Vascular
Δ	Δ	Tamaño del Efecto

Abreviaturas de las Regiones de Interés (ROIs) utilizadas en los distintos estudios

Acc	Acc	Corteza Cingulada Anterior
Ang	Ang	Corteza Angular
Cu	Cu	Cúneus
FMC	FMC	Corteza Frontal Medial
FOC	FOC	Corteza Fronto-Orbital
Hip	Hip	Hipocampo
IPL	IPL	Lóbulo Parietal Inferior
ITG	ITG	Giro Temporal Inferior
LIOC	LIOC	Corteza Occipital Lateral Inferior

LSOC	LSOC	Corteza Occipital Lateral Superior
OP	OP	Polo Occipital
Pc	Pc	Precuneus
Pcc	Pcc	Corteza Cingulada Posterior
PFC	PFC	Corteza Prefrontal
PosCG	PosCG	Giro Poscentral
PreCG	PreCG	Giro Precentral
RSC	RSC	Corteza Retrosplenial
SFG	SFG	Giro Frontal Superior
SMG	SMG	Giro Supramarginal
STG	STG	Giro Temporal Superior
TP	TP	Polo Temporal

Denominación de los grupos incluidos en los distintos estudios

CN	CN	Sujeto/s control/es
CN+ o DCL+	CN+ o DCL+	Sujeto control o con DCL amiloide positivo
CN33/DCL33 o CN34/DCL34	CN33/DCL33 o CN34/DCL34	Sujeto control o con DCL con genotipo de APOE 33 o 34

Lista de Figuras

Figura 1.1. Izquierda: Flujo de la señal eléctrica en una neurona piramidal. Derecha: Vía motora y dirección del flujo de electricidad. Fuente: Instituto S.R. y Cajal (Madrid).....	41
Figura 1.2. Células Gliales.	42
Figura 1.3. Partes de una neurona. Fuente micrografías ⁶⁴	44
Figura 1.4. Fases del potencial de acción	47
Figura 1.5. Diagrama en el que se muestra un segmento de corteza cerebral cuya longitud oscila entre los 3 y 4 mm (A). Dicho segmento, dada la distribución espacial de sus dendritas apicales (C), sólo generará un campo magnético normal a la superficie de la cabeza (línea roja) si se encuentra en un surco (B). Únicamente los potenciales postsinápticos (D) duran lo suficiente como para que se pueda producir una suma de los campos neuronales correspondientes. Para generar un campo magnético en superficie detectable es necesario que unas 100000 neuronas alineadas adecuadamente disparen sincronamente (E).....	50
Figura 1.6. Esquema de un laboratorio de magnetoencefalografía.	53
Figura 1.7. Descripción de los componentes principales de un sistema de magnetoencefalografía. A. Esquema del interior del vaso Dewar. El cuadro amarillo describe la localización B , y constitución de los SQUIDS C . El cuadro azul muestra la localización de los transformadores de flujo B , y las bobinas de detección D).	56
Figura 1.8. Distribución espectral del ‘ruido’ magnético, comparado con valores típicos de campo en MEG (campos evocados y ritmo α). Modificada de ⁶⁶	58
Figura 1.9. Descripción de un sistema de resonancia magnética nuclear (MRI). A. Sistema de resonancia magnética nuclear (MRI). B. Esquema de los componentes principales de un sistema MRI. C. Representación de los ROIs involucrados en la DMN y modelización de la respuesta hemodinámica (BOLD). D. Imagen T1 en la que se observa un oligodendroglioma (mismo caso que el expuesto en la Figura 1.10, D). E. Estado de los átomos de hidrógeno en ausencia y en presencia de un campo magnético externo B_0 . F. Modelización del origen de la señal T1. Figura modificada de ⁷⁸	60
Figura 1.10. Tomografía por emisión de positrones. A. sistema de tomografía por emisión de positrones (PET). C. Imagen de la concentración de beta-amiloide realizada con PiB-PET. D. Imagen de metabolismo realizada con FDG-PET en la que se observa el efecto de un oligodendroglioma (la localización del mismo puede observarse en la imagen correspondiente de la Figura 1.9, D).	63
Figura 1.11. Esquema comparativo de las resoluciones de las distintas técnicas existentes en neurociencia. Las abreviaturas se refieren a: EEG - Electroencefalografía; MEG – Magnetoencefalografía; PET - Tomografía por Emisión de Positrones; fMRI - Resonancia Magnética Funcional; NIRS – Tomografía Óptica mediante Infrarrojos. Modificada de ⁷⁸	64
Figura 1.12. A. Trayectorias de la reducción de volumen (en z-scores) de la corteza cerebral e hipocampal en función de la edad. Modificada de ⁹⁷ . B. Diferencias en materia blanca relativa en función de la edad. Modificada de ⁹⁸ . C. Frecuencia estimada (porcentaje) de población en cada grupo en función de la edad. Modificada de ⁹ . D. Análisis de la integridad y densidad de las espinas dendríticas en dos muestras pertenecientes a pacientes con distinta edad. Modificada de ^{99,100} . E. Conectividad funcional entre la corteza cingulada posterior y el córtex frontal en función de la edad en jóvenes (línea y puntos negros) y en ancianos (línea y puntos verdes). Modificada de ¹⁰¹ . F. Representación del comportamiento inverso que se da entre la variabilidad inter-sujeto en la ejecución cognitiva y la de la actividad cerebral. Modificada de ⁹⁵	71
Figura 1.13. A. distribución de los genotipos y alelos del ApoE en controles y sujetos con Alzheimer para diferentes razas Figura modificada de ¹⁴ . B. Riesgo de desarrollar Alzheimer en portadores de dos, uno o ningún alelo $\epsilon 4$ del gen ApoE en mujeres (M) y hombres (H). Figura modificada de ¹⁸³ . C. Rol del alelo APOE- $\epsilon 4$	

en la neuropatología de la EA, que puede ser a través del incremento de ella o mediante la disminución de los mecanismos neuroprotectores. Figura modificada de¹⁸⁴ 77

Figura 1.14. Cambios asociados con la progresión de la enfermedad de Alzheimer (EA) con diferentes técnicas de neuroimagen. Tau y β A muestran los cambios histológicos de las acumulaciones de tau y beta-amiloide²⁸¹. PiB-PET muestra la relación entre la concentración de beta-amiloide medida con PET y el rendimiento cognitivo. MRI muestra la progresión de la reducción de materia gris²⁸². FA modela el decremento de anisotropía fraccional en la EA (menos FA mayor degeneración de la materia blanca). DTI ejemplifica la variación de la conectividad estructural conforme avanza la EA²⁸³. fMRI muestra como como con el avance de la enfermedad la conectividad funcional medida con resonancia magnética funcional decrece (amarillo) en el precuneus (azul)²⁸⁴. EEG representa el decrecimiento de la potencia en la banda alfa (8-10Hz) medido con electroencefalografía²⁶. CS = controles sanos, DCL = deterioro cognitivo leve. Figura modificada de²⁸⁵ .. 85

Figura 1.15. Modelo de la evolución de la enfermedad de Alzheimer. El umbral de detección se refiere al valor para el cual son apreciables los cambios patofisiológicos. El área gris denota la zona en la cual los cambios pueden estar ya ocurriendo pero son indetectables con las técnicas actuales. El área verde comprende la evolución del daño cognitivo en función de la variabilidad inherente a cada sujeto (genes, reserva cognitiva...). LCR = líquido cefalorraquídeo, β A = beta-amiloide, RMN = resonancia magnética nuclear, FDG = fluorodeoxyglucose, QSM = quejas subjetivas de memoria, DCL = deterioro cognitivo leve, EA enfermedad de Alzheimer. Figura modificada de³ 88

Figura 1.16. Criterios diagnósticos de la Enfermedad de Alzheimer. Modelo NIA-AA^{5,6,308,309}. QSM (quejas subjetivas de memoria), DCL (deterioro cognitivo leve), EA (enfermedad de Alzheimer), β A (biomarcador: acumulación de beta-amiloide). Neurodegeneración (biomarcador: FDG-PET y/o volumetría hipocampo). *Evolución de la enfermedad: Típica (la sintomatología aparece de forma gradual; existe una historia clínica que lo atestigua; ha de existir deterioro en la memoria y en al menos otro dominio cognitivo; no puede haber indicios de otras demencias), Atípica (la enfermedad aparece de forma súbita y/o no existe un historial bien documentado; puede haber indicios de otras demencias). 90

Figura 2.1. Esquema del preprocesado. **A.** Previamente al registro MEG es necesario llevar a cabo la digitalización de la cabeza de los sujetos y se han de fijar los electrodos para la detección de parpadeos. **B.** Filtrado tsss de los datos MEG. **C.** Segmentación de las señales MEG en épocas (o trials) de 4 segundos. **D.** Se realiza un análisis automático mediante Fieldtrip para localizar posibles artefactos; de arriba abajo, Jumps, musculares y parpadeos. **E.** Inspección visual de los trials supervivientes al proceso automático. **F_a.** Filtrado en bandas de frecuencia para los estudios de FC. **F_b.** Filtrado de banda ancha (delta-gamma) para los estudios de potencia. Figura D modificada de³¹² 95

Figura 2.2. Marcos de análisis. **A.** Sensores del sistema Elekta Neuromag, en la parte superior se muestra su distribución sobre la cabeza e inmediatamente debajo una proyección en 2 dimensiones de los mismos. **B.** Representación típica de resultados, tanto en 3D como en 2D, que involucran un único valor por sensor (e.g. potencia, activación, FC media). **C.** Visualización de resultados de FC en los que se tienen relaciones entre sensores. **D.** MRI del modelo normalizado del Montreal Neurological Institute (MNI) empleado en la mayoría de los estudios de neurociencia como referencia común. **E_a.** Grid regular con 2455 nodos (fuentes generadoras) espaciados 1 cm. Debajo se muestra la representación de los resultados de potencia/activación y FC. **E_b.** Grid regular con 302 nodos espaciados 2 cm. **F.** Atlas Harvard-Oxford empleado para etiquetar cada nodo como perteneciente a una región anatómica dada. De esta manera se puede pasar de 2455 nodos a 117 ROIs que además tienen un significado neurológico. 98

Figura 2.3. Metodología seguida para la obtención de las fuentes generadoras. **A.** Segmentación y cálculo del volumen de conducción para el template MNI. Definición del grid con un espaciado de 1 o 2 cm. **B.** Realineación para cada sujeto MEG-MRI. **C.** Segmentación de la MRI de cada sujeto, de arriba abajo; materia gris, materia blanca, líquido cefalorraquídeo. **D.** Cálculo del volumen de conducción para cada sujeto. **E.**

Cálculo de la transformación del espacio sujeto al espacio estándar. Aplicación de la transformación inversa al grid creado en A para tener su correspondencia en el espacio sujeto. F. Comprobación del modelo incluyendo MRI, volumen de conducción, fiducials, headshape y sensores MEG. G. Solución del problema directo, cálculo del leadfield. H. Solución del problema inverso mediante beamformer LCMV. I. Obtención de las corrientes de las fuentes generadoras en las bandas correspondientes.	107
Figura 2.4. Análisis de potencia. Este esquema retoma el trabajo donde lo dejó la Figura 2.1 o la Figura 2.3 dependiendo de si se va a analizar la potencia en sensores o en fuentes respectivamente. A. Espectros normalizados para todos los sujetos de un grupo. B. Comparación estadística entre los valores de potencia en cada sensor/nodo/ROI en cada paso de frecuencia. La cubierta amarilla simboliza la misma cantidad de datos mostrada en el gráfico encuadrado en el mismo color. C. Resultados de potencia en fuentes (derecha) y en sensores (izquierda).	109
Figura 2.5. Análisis de conectividad funcional. Este esquema retoma el trabajo donde lo dejó la Figura 2.1 o la Figura 2.3 dependiendo de si se va a analizar la FC en sensores o en fuentes respectivamente. A. El primer paso es el cálculo de la sincronización de fase mediante el PLV. B. Ejemplo de una matriz de conectividad. Canales puede referirse a sensores, nodos o ROIs en función del marco de trabajo (Figura 2.2). En este caso la matriz es simétrica porque el PLV no ofrece información sobre la dirección del acoplamiento. C. Comparación estadística de los valores de conectividad para cada link entre dos grupos. El panel frontal amarillo muestra la localización de la matriz de conectividad de un sujeto dado en la estructura de datos. Este proceso se lleva a cabo para cada banda de frecuencia. D_a. Resultados en el espacio de sensores. D_b. Resultados en el espacio de fuentes. En la parte inferior, la leyenda ofrece información sobre qué grupo posee un valor medio de conectividad más alto en función del color de cada link.	110
Figura 2.6. Ejemplos de tipos de sincronización. Se muestran dos señales originadas mediante dos atractores de Rössler no idénticos con diferentes grados de acoplamiento: no acoplado (AB), acoplado en fase (CD), completamente acoplado (EF). A la izquierda se muestra la fase y a la derecha la amplitud. Modificada de ³³⁰	113
Figura 3.1. Efecto principal del diagnóstico en el rango 6-9 Hz. Los ROIs en amarillo muestran las diferencias significativas ($p < 0.05$) en los valores de potencia relativa entre pacientes con DCL y controles (CN). Las barras amarillas de los gráficos corresponden al promedio de la potencia relativa de los ROIs para cada grupo. La barra horizontal en la parte superior indica las diferencias significativas de la potencia ($p < 0.05$) debidas al efecto principal del diagnóstico y las comparaciones por pares del t-test entre grupos. El valor promedio del tamaño del efecto es 0.91 ± 0.17 (mínimo 0.69 y máximo 1.29).	123
Figura 3.2. El efecto principal del diagnóstico en el rango de frecuencias 10-14 Hz. Los ROIs en amarillo muestran las diferencias significativas ($p < 0.05$) en potencia relativa entre el grupo control (CN) y el de pacientes con DCL. Las barras amarillas de los gráficos corresponden al promedio de la potencia relativa de los ROIs para cada grupo. Los valores del tamaño del efecto para la comparación de la potencia relativa entre CN y DCL en rFOC es -0.7, mientras que en ITP es -0.63.	124
Figura 3.3. El efecto principal del diagnóstico en el rango de frecuencia 19-22 Hz. Los ROIs en amarillo muestran las diferencias significativas ($p < 0.05$) en el valor de potencia relativa entre controles (CN) y pacientes con DCL. Las barras amarillas de los gráficos muestran el correspondiente valor promedio de la potencia relativa de los ROIs para cada grupo. Las barras horizontales en la parte superior indican las diferencias significativas ($p < 0.05$) en potencia debidas efecto principal diagnóstico y las comparaciones por pares del t-test entre grupos. El tamaño del efecto para la comparación de la potencia relativa entre CN y DCL en lAng, iLIOC, OP, y rLIOC son -0.74, -0.83, -0.69 y -0.78 respectivamente.	124
Figura 3.4. Efecto principal del genotipo APOE en el rango de frecuencia 4.5-6.5 Hz. Los ROIs en amarillo muestran las diferencias significativas ($p < 0.05$) en potencia relativa entre los sujetos con genotipo APOE 33 y aquellos con genotipo APOE 34. Las barras amarillas de los gráficos muestran la correspondencia del	

promedio de la potencia relativa de los ROIs para cada grupo. La barra horizontal de la parte superior indica las diferencias significativas ($p < 0.05$) de potencia debido al efecto principal de APOE y las comparaciones por pares del t-test entre grupos. El tamaño del efecto de las comparaciones de potencia relativa entre portadores del alelo APOE- $\epsilon 4$ y no portadores en el SFG es de 1.41. CN: controles, DCL: deterioro cognitivo leve. 125

Figura 3.5. Efecto principal del diagnóstico en la banda alfa. En amarillo se muestran los ROIs con diferencias significativas en los valores de FC media global (grado) entre los grupos control (CN) y el conformado por los sujetos con Deterioro Cognitivo Leve (DCL). En azul se muestran para cada ROI resaltado en amarillo sus links con diferencias significativas en los valores de FC entre CN y DCL. En las tablas se muestran los valores rho y p de Pearson de las correlaciones significativas entre los valores de FC y los de los test neuropsicológicos o los volúmenes de hipocampo. 135

Figura 3.6. Efecto principal del diagnóstico en la banda beta1 (12-20Hz). En amarillo se muestran los ROIs con diferencias significativas en los valores de FC media global (grado) entre los grupos control (CN) y el conformado por los sujetos con Deterioro Cognitivo Leve (DCL). En azul se muestran para cada ROI resaltado en amarillo sus links con diferencias significativas en los valores de FC entre CN y DCL. En las tablas se muestran los valores rho y p de Pearson de las correlaciones significativas entre los valores de FC y los de los test neuropsicológicos o los volúmenes de hipocampo. 136

Figura 3.7. Efecto principal del genotipo APOE en la banda delta. En amarillo se muestran los ROIs con diferencias significativas en los valores de FC media global (grado) entre los grupos formados por los sujetos con APOE 34 y APOE 33. En azul se muestran para cada ROI resaltado en amarillo sus links con diferencias significativas entre APOE 34 y APOE 33. Los diagramas de barras reflejan los valores medios de FC de cada resultado significativo. Las barras de error corresponden con los errores estándar de cada valor de FC significativo. 137

Figura 3.8. Efecto interacción (APOE-diagnóstico) en la banda delta. En este análisis se consideran 4 grupos: controles con genotipo APOE 33 (CN33), controles con genotipo APOE 34 (CN34), sujetos con Deterioro Cognitivo Leve con genotipo APOE 33 (DCL33), sujetos con Deterioro Cognitivo Leve con genotipo APOE 34 (DCL34). En amarillo se muestran los ROIs con diferencias significativas en el efecto interacción en los valores de FC media global (grado). En azul se muestran para cada ROI resaltado en amarillo sus links con diferencias significativas entre al menos un par de grupos. Los diagramas de barras reflejan los valores medios de conectividad de cada resultado significativo. Las barras de error corresponden con los errores estándar de cada valor de FC significativo. En la tabla superior se muestran los valores rho y p de Pearson de las correlaciones significativas entre los valores de FC y los de los test neuropsicológicos o los volúmenes de hipocampo. 138

Figura 3.9. Efecto interacción (APOE-diagnóstico) en la banda theta. En este análisis se consideran 4 grupos: controles con genotipo APOE 33 (CN33), controles con genotipo APOE 34 (CN34), sujetos con Deterioro Cognitivo Leve con genotipo APOE 33 (DCL33), sujetos con Deterioro Cognitivo Leve con genotipo APOE 34 (DCL34). En amarillo se muestran los ROIs con diferencias significativas en el efecto interacción en los valores de FC media global (grado). En azul se muestran para cada ROI resaltado en amarillo sus links con diferencias significativas entre al menos un par de grupos. Los diagramas de barras reflejan los valores medios de conectividad de cada resultado significativo. Las barras de error corresponden con los errores estándar de cada valor de FC significativo. 139

Figura 3.10. Diferencias significativas ($p < 0.05$) en potencia relativa debidas al Diagnóstico. Los ROIs resaltados en rojo muestran las diferencias entre los grupos correspondientes: sujetos ancianos sanos sin amiloidosis (CN-), sujetos ancianos sanos con amiloidosis (CN+) sujetos ancianos con Deterioro Cognitivo Leve (DCL) sin amiloidosis (DCL-), sujetos ancianos con DCL con amiloidosis (DCL+). Los valores estadísticos y

<i>las correlaciones entre la potencia relativa significativa y las puntuaciones neuropsicológicas se muestran en las Tablas Tabla 3.11 y Tabla 3.13.</i>	<i>145</i>
<i>Figura 3.11. Diferencias significativas ($p < 0.05$) en potencia relativa debidas a la tenencia o no de acumulación de Aβ. Los ROIs resaltados en amarillo muestran las diferencias entre los grupos correspondientes: sujetos ancianos sanos sin amiloidosis (CN-), sujetos ancianos sanos con amiloidosis (CN+) sujetos ancianos con Deterioro Cognitivo Leve (DCL) sin amiloidosis (DCL-), sujetos ancianos con DCL con amiloidosis (DCL+). Los valores estadísticos y las correlaciones entre la potencia relativa significativa y las puntuaciones neuropsicológicas se muestran en la Tabla 3.12.</i>	<i>146</i>
<i>Figura 3.12. Conectividad funcional alterada a nivel Intra-Precuneus. El ROI resaltado en azul muestra la subred contenida en el precuneus con un decremento significativo ($p < 0.05$) en el grupo CN+ (ancianos sanos con amiloidosis), comparado con el CN- (ancianos sanos sin amiloidosis). El scatter muestra la correlación significativa entre el valor de FC medio de la subred y el valor mcSUVR (ρ = valor rho Spearman). En la figura de la derecha se muestra la distribución de amiloide que correlacionaba significativamente con el valor de FC medio de la subred.</i>	<i>155</i>
<i>Figura 3.13. Conectividad funcional alterada con el Precuneus. Los ROIs resaltados en rojo muestra un incremento de FC significativo ($p < 0.05$) en el grupo CN+ (ancianos sanos con amiloidosis), comparado con el CN- (ancianos sanos sin amiloidosis). El scatter muestra la correlación significativa entre el valor de FC medio de la subred entre ambos ROIs y el valor mcSUVR (ρ = valor rho Spearman). En cada figura inferior se muestra la distribución de amiloide que correlacionaba significativamente con el valor de FC medio de la subred correspondiente.</i>	<i>156</i>

Lista de Tablas

Tabla 2.1. Esquema de utilización de test de inferencia estadística en función del tipo de datos. Modificada de ³³⁸	115
Tabla 3.1.Descripción demográfica. DCL, deterioro cognitivo leve. CN, control. 33 o 34, genotipo APOE 33 o 34respectivamente. H, hombres; M, mujeres; MMSE test mini-mental; n trials, número de segmentos limpios de 4 segundos empleados en el análisis. El RHV (volumen hipocampal derecho) y el LHV (volumen hipocampal izquierdo) fueron normalizados con el volumen intracraneal total. El nivel educacional fue agrupada en 5 niveles: 1) analfabeto, 2) estudios primarios, 3) estudios elementales, 4) estudios medios, y 5) estudios universitarios. nTrials, número medio de segmentos de señal MEG de 4 segundos incluidos en el estudio.	120
Tabla 3.2.Regiones de interés (ROIs). El nombre de los ROIs y el número de los nodos están en las dos primeras columnas. Las coordenadas centrales de los ROIs corresponden a las coordenadas promedio de todos los nodos dentro del correspondiente ROI. Los ratios máximos/mínimos muestran la distancia Euclídea entre cada nodo y la posición central de del ROI correspondiente.	122
Tabla 3.3. Valores “p” y “r” de Pearson de todas las correlaciones significativas entre los test neuropsicológicos y la potencia relativa en el rango de frecuencia 4.5-6.5. MMSE, test mini-mental, TMT, trail making test, n.s., no significativo.	125
Tabla 3.4. Valores “r” y “p” de Pearson de todas las correlaciones significativas de los test neuropsicológicos y los valores de potencia relativa en el rango de frecuencia de 6-9 Hz. MMSE, test mini-mental; TMT, Trail Making Test, BNT, Boston Naming Test; n.s., no significativo; OP, polo occipital; LIIOC, córtex occipital lateral inferior izquierdo; rLIIOC, córtex occipital lateral inferior derecho; ILSOC, córtex occipital superior lateral izquierdo; rLSOC, córtex occipital superior lateral derecho; lAng, giro angular izquierdo; rAng, giro angular derecho; ISMG, giro supramarginal izquierdo; rSMG, giro supramarginal derecho; ISTG, giro temporal superior izquierdo; rSTG, giro temporal superior derecho.....	126
Tabla 3.5. Valores “r” y “p” de Pearson de todas las correlaciones significativas de los test neuropsicológicos y los valores de potencia relativa en el rango de frecuencia de 6-9 Hz. MMSE, test mini-mental; TMT, Trail Making Test, BNT, Boston Naming Test; n.s., no significativo; lPosCG, giro poscentral izquierdo; rPosCG, giro poscentral derecho; IFOC, córtex orbitofrontal izquierdo; rFOC, córtex orbitofrontal derecho; ITP, polo temporal izquierdo; rTP, polo temporal derecho; IITG, giro temporal inferior izquierdo; rITG, giro temporal inferior derecho;	127
Tabla 3.6. Valores “r” y “p” de Pearson de todas las correlaciones significativas de los test neuropsicológicos y los valores de potencia relativa en el rango de frecuencia de 6-9 Hz. MMSE, test mini-mental; TMT, Trail Making Test, BNT, Boston Naming Test; n.s., no significativo; Pcc, córtex cingulado posterior; Acc, córtex cingulado anterior; Pc, precuneus; lHip, hipocampo izquierdo; rHip, hipocampo derecho; lPFC, córtex prefrontal izquierdo; rPFC, córtex prefrontal derecho; mPFC, córtex prefrontal medial	128
Tabla 3.7. Valores “r” y “p” de Pearson de todas las correlaciones significativas entre los test neuropsicológicos y los valores de potencia relativa en el rango de frecuencia de 10-14 y 19-22 Hz. rFOC, córtex orbitofrontal derecho; ITP, polo temporal izquierdo; OP, polo occipital; LIIOC, córtex occipital lateral inferior izquierdo; rLIIOC, córtex occipital lateral inferior derecho; lAng, giro angular izquierdo, MMSE, test mini-mental; TMT, Trail Making Test; ; BNT, Boston Naming Test; n.s., no significativo	129
Tabla 3.8. Descripción demográfica. DCL, deterioro cognitivo leve. CN, control. 33 o 34, genotipo APOE 33 o 34respectivamente. H, hombres; H, mujeres; MMSE test mini-mental; n trials, número de segmentos limpios de 4 segundos empleados en el análisis. El RHV (volumen hipocampal derecho) y el LHV (volumen hipocampal izquierdo) fueron normalizados con el volumen intracraneal total. El nivel educacional fue agrupada en 5	

niveles: 1) analfabeto, 2) estudios primarios, 3) estudios elementales, 4) estudios medios, y 5) estudios universitarios. nTrials, número medio de segmentos de señal MEG de 4 segundos incluidos en el estudio.	132
Tabla 3.9. Descripción demográfica. M (Mujeres). H (Hombres). mcSUVR (mean cortical standardized uptake value ratio). MMSE (mini-mental state examination). ApoE (genotipo APOE). LM I&II (Puntuaciones de memoria a corto (I) y largo plazo (II) obtenidas mediante la escala de Wechsler). ADAS-Jcog (Alzheimer's Disease Assessment Scale-Cognitive Component-Japanese version). VSRAD (puntuación de atrofia hipocampal: VSRAD < 1 normal, VSRAD >1 atrofia).....	142
Tabla 3.10. Regiones de Interés [ROIs]. Los nombres abreviados de cada ROI se muestran en la primera columna. En las últimas tres columnas se muestran las coordenadas centrales (en mm) de cada ROI en el espacio estándar.	143
Tabla 3.11. Valores estadísticos de la comparación basada en el diagnóstico. La tabla indica el nombre de la comparación a la que se refieren los resultados (2ª columna), el rango de frecuencia de la comparación (3ª columna), donde LFR implica rango de baja frecuencia (1.5-6.5Hz), HFR denota rango de alta frecuencia, LFR (θ) indica que las diferencias se hallan en el segundo tramo del rango de baja frecuencia (4-6.5Hz). Las últimas dos columnas indican respectivamente el valor de p del test ANCOVA de las diferencias entre grupos y el tamaño del efecto asociado. DCL, deterioro cognitivo leve. CN, control. FMC, corteza frontal medial. IPL, lóbulo parietal inferior. Pc, precuneus, Cu, cúneus. OccP, polo occipital. Pcc, corteza cingulada posterior... 146	146
Tabla 3.12. Valores estadísticos de la comparación basada en la acumulación de Aβ. La tabla incluye los pares de grupos involucrados en cada comparación (2ª columna), el rango de frecuencia de la comparación (3ª columna), donde HFR implica rango de alta frecuencia, Las últimas dos columnas indican respectivamente el valor de p obtenido con ANCOVA de las diferencias entre grupos y el tamaño del efecto asociado. DCL, deterioro cognitivo leve. CN, control. FMC, corteza frontal medial. Acc, corteza cingulada anterior.	147
Tabla 3.13. Valores estadísticos de las comparaciones por pares de grupos tras haber sido segregados en función del diagnóstico y la tenencia o no de acumulación de Aβ. La tabla incluye los pares de grupos involucrados en cada comparación (2ª columna), el rango de frecuencia de la comparación (3ª columna), donde LFR implica rango de baja frecuencia (1.5-6.5Hz), HFR denota rango de alta frecuencia, LFR (δ) indica que las diferencias se hallan en el primer tramo del rango de baja frecuencia (1.5-4Hz) y LFR (θ) que las diferencias se encuentran en el rango (4-6.5Hz). Las últimas dos columnas indican respectivamente el valor de p obtenido con ANCOVA de las diferencias entre grupos y el tamaño del efecto asociado. DCL, deterioro cognitivo leve. CN, control. FMC, corteza frontal medial. IPL, lóbulo parietal inferior. Pc, precuneus, Cu, cúneus. OccP, polo occipital. Pcc, corteza cingulada posterior. Acc, corteza cingulada anterior.	148
Tabla 3.14. Descripción demográfica. M (Mujeres). H (Hombres). CN- (ancianos sanos sin amiloidosis). CN+ (ancianos sanos con amiloidosis). mcSUVR (mean cortical standardized uptake value ratio). ApoE (genotipo APOE). LM I&II (Puntuaciones de memoria a corto (I) y largo plazo (II) obtenidas mediante la escala de Wechsler). Los volúmenes de hipocampo han sido normalizados respecto al volumen total intracraneal. nTrials: número medio de trials por sujeto empleados en el estudio para cada grupo.	152
Tabla 3.15. Resultados estadística del análisis de FC. A la izquierda se muestra el nombre de los ROIs implicados en cada resultado. La segunda columna muestra el tamaño del efecto y la tercera el valor de p para el test ANCOVA entre grupos con edad como covariable. La 4ª columna indica el resultado obtenido en la clasificación para cada valor de FC, obtenido mediante un análisis de regresión logística corregido con el procedimiento leave-one-out-cross-validation. En la última columna se muestran las coordenadas centrales de los ROIs implicados en cada resultado. Todos los resultados han sido comprobados con un test no paramétrico basado en clústeres. IPL, lóbulo parietal inferior.	157

Thesis Summary

Introduction

About 26 million people worldwide are affected by Alzheimer Disease (AD)¹. This pathology is characterized by extracellular formation of beta-amyloid plaques (A β), intracellular aggregation of neurofibrillary tangles, neuronal loss, synaptic loss, and neuroinflammation². Among all the pathophysiological processes which underlie AD, the A β deposition appears to be the main neuropathological sign of the disease, along with the abnormal phosphorylation of Tau protein³. It seems that this deposition starts decades before the onset of the clinical symptoms of AD⁴, and, according to new diagnostic criteria, constitutes the key feature of the preclinical stage 1⁵ and the diagnosis of Mild Cognitive Impairment (MCI) due to AD⁶. About 20-40 % of all cognitively healthy intact subjects (HCs) aged 60-90 years are A β positive^{7,8}, reaching a 28% in HCs aged 74 years⁹.

The A β deposition is strongly affected by the Apolipoprotein E (APOE) genotype (see Kim, Basak, and Holtzman 2009 for an extensive review), which additionally constitutes the major genetic risk for AD^{11,12}. Recent work¹³ has assessed how ϵ 4 allele may induce neuropathology through various cellular pathways which include not only A β aggregation and clearance but impaired neurite outgrowth, cytoskeletal disruption and hyperphosphorylation of tau, mitochondrial dysfunction in neurons and impaired synaptogenesis, among others. There are two main consequences of that pathology: 1. an increased risk of late-onset AD in the caucasian population by a factor of 3 to 12; and 2. a reduction of the age of AD onset by 10 to 20 years in APOE- ϵ 4 heterozygote and homozygote, respectively¹⁴. In addition, carrying the ϵ 4 allele produces an increased risk of conversion to AD in patients at earlier stages of the degenerative process (e.g. MCI)¹⁵.

The A β accumulates first in areas associated with the default Mode Network (DMN)^{16–20}. A direct relation has been described between amyloid accumulation and brain activity²¹ and functional connectivity (FC)^{22,23}. In addition, the specific distribution of A β in the brain influences the communications among neurons at a network level²⁴. Taken together, these evidences suggest the necessity of investigating the brain intrinsic activity within the AD spectrum in further detail. Especially in the transition between amyloid negative and positive status that occurs in healthy subjects, when the prevention is still possible²⁵.

Goals and hypotheses

The main goal of the present dissertation is to contribute to the understanding of the different effects that the APOE- ϵ 4 allele and the amyloid load exert on the resting state

brain activity measured with Magnetoencephalography (MEG). More specifically, we were interested in their influence in the preclinical and prodromal stages of the AD, in order to be able to enlighten new ways for future early non-invasive biomarkers. In addition to the main goal, and actually as a consequence of it, we worked on the improvement of the data analysis with MEG. Nowadays, MEG is not commonly used in literature due to the prominence of fMRI. However, the measurement of the brain's raw activity in real time is of critical importance in the present and future neuroscience. The MEG is a totally non-invasive procedure that represents a direct measurement of neural activity. It combines the highest time resolution and a remarkable spatial resolution, but it requires a high “know how” because the methodologies are not completely standardized, as it is the case of fMRI.

The main hypothesis is that the APOE- ϵ 4 allele and the β -amyloid accumulation have to influence the brain's resting state activity at both levels, the power distribution and the functional organization.

We expected that APOE 34 and PiB+ subjects would exhibit a pattern in the power studies of slowing, which includes increased power within the low-frequency range, and reduced activity within the high-frequency range. In addition, we predicted that this effect affects the MCI subjects to a larger extent.

Regarding the FC studies, we expected that the APOE 34 and PiB+ subjects would show diminished FC within the DMN and especially in high frequency bands. We had expected as well some kind of compensatory mechanism in the HC34/HC+ as they were maintaining the cognitive status.

Finally, we anticipated that the significant biomagnetic signatures happen before any significant neurodegeneration (FDG-PET or MRI volumetry). This might highlight the importance of the possible early synaptic damage and the resulting network disruption in the preclinical stages of the disease.

Results

In the first study, we obtained MEG recordings from 25 aged HC and 36 MCI patients during a resting-state condition. According to their APOE genotype, MCIs and controls were subdivided in carriers and non-carriers of the APOE- ϵ 4 allele. Sources of spectral variations in these groups were calculated through beamforming. MCI patients exhibited a significant increase of relative power within the low-frequency domain, accompanied by a power decrease within the high-frequency range. APOE ϵ 4 carriers showed an increased relative power in the 4.5-6.5Hz frequency range over frontal lobes. The power increase observed in controls carrying APOE- ϵ 4 was significantly higher as compared with MCI non-

carriers, while MCI carriers exhibited the highest relative power within the 4.5-6.5 Hz range. Higher power values within the low-frequency ranges correlated with a poorer cognitive performance in MCIs and controls

In the second study, the resting state MEG recordings were obtained from 27 HC subjects and 36 MCI patients. All participants were divided into carriers and non-carriers of the APOE- ϵ 4 allele. We calculated the FC, assessed with Phase Locking Value (PLV), in the source space along brain regions estimated using the Harvard-Oxford atlas and in the classical bands. Then, a two way ANOVA analysis (diagnosis and APOE) was performed in each frequency band. The diagnosis effect consisted of a diminished FC within the high frequency bands in the MCI patients, affecting medial temporal and parietal regions. The APOE effect produced a decreased long range FC in delta band in APOE- ϵ 4 carriers. Finally, the interaction effect showed that the FC pattern of the right frontal-temporal region could be reflecting a compensatory/disruption process within the APOE- ϵ 4 allele carriers. Several of these results correlated with cognitive decline and neuropsychological performance.

In the third study, we assessed the regional spectral variations of the brain's resting state activity due to the presence of amyloid load. The original sample consisted of 37 HC elders and 27 MCI patients. On the basis of amyloid imaging, we obtained four groups: 25 HC PiB-PET negative (HC-), 12 HC PiB-PET positive (HC+), 11 MCI PiB-PET negative (MCI-) and 15 MCI PiB-PET positive (MCI+). The spectral profiles of the DMN ROIs were calculated through beamforming, and relative power differences were assessed through an ANCOVA statistical test with age as the covariate. The results pointed out a differential relationship among amyloid markers, neurophysiological markers, and disease severity. The effect of Diagnosis displayed the typical pattern of posterior association cortex increase (including lateral parietal and retrosplenial cortex (RSC)) within delta-theta frequency ranges (LFR), accompanied by a decrease of alpha activity (HFR). The A β load effect showed a significant power increase within the alpha range in the medial frontal regions that appeared in both PIB+ groups. Notably, pairwise comparisons drew a more complex portrait of the relationship between diagnosis and amyloid accumulation. HFR power augmentation in medial frontal regions emerged as a highly specific marker of significant amyloid burden, while low-frequency increase in posterior brain regions appeared as a marker of cognitive deterioration. Also, the frequently reported HFR power decrease in posterior brain regions within MCIs, seemed to be due mainly to the influence of MCI- patients. These trends were confirmed by the observed correlation patterns. Interestingly, mCSUVR values also failed to show any significant correlation with cognitive testing.

Finally, in the fourth study, we analyzed the brain's resting state activity of 45 cognitively healthy aged subjects: 32 HC- and 13 HC+. The FC in the classical bands was assessed in the source space along brain regions within the DMN. A cluster-based analysis was performed between groups and the results showed that A β deposition in the Preclinical AD stage 1, exert an important influence onto the integrity of the DMN, specifically in the precuneus-associated functional networks. These changes were found to be frequency dependent and involved local and long distance ranges. In addition, the FC measures were strongly correlated with SUVR scores. Basically, we found two kinds of results: 1) in the delta band, the precuneus showed diminished internal FC in the HC+; 2) the communication between the Pc and both IPLs appeared to be enhanced in the HC+ subjects.

Discussion

Power Analysis

The results presented in this dissertation add further information on the influence of APOE genotype and A β accumulation in the spontaneous MEG activity of MCI patients and HC subjects. As expected, MCI patients exhibited a significant increase in relative power within the low-frequency domain, accompanied by a power decrease within the alpha and “high” beta frequency ranges^{26,27}. More importantly, APOE- ϵ 4 carriers showed a significant increase in relative power within a 4.5-6.5 Hz frequency range in the SFG, and PiB positive subjects showed and increased power in the alpha range in the frontal middle cortex and the anterior cingulate cortex. These increases appeared in MCIs and HC, indicating that both factors have a specific signature in the MEG background activity. The presence of the APOE- ϵ 4 allele produces a pattern of “slowing” which could be related with a cholinergic deficit^{28,29}. The amyloid deposition could be reflecting an “anteriorization” of alpha activity^{30–33}.

APOE FC Analysis

In concordance with previous resting state literature, FC in alpha and beta bands was diminished in both parietal and hippocampal areas in the MCI group when compared to controls^{34–37}. The interaction between the diagnostic group and APOE genotype revealed the main role of the low frequency bands (delta and theta) and the right fronto-temporal regions (rFOC and rTP, henceforth called rFT). This result could be driven by a compensation/disruption process due to a specific effect of the ϵ 4 allele on the anterior hippocampal network³⁸. Moreover, the FT regions have been described as locations in which A β accumulates^{18,24,39}, and it has been previously reported that ϵ 4 carriers (patients and controls) showed higher A β deposition over the orbitofrontal cortex than non-carriers⁴⁰. Thus, it seems that the potential damage associated with A β accumulation could be

caused by the following factors: 1) in the non-symptomatic stage, $\epsilon 4$ carriers try to compensate by increasing FC; 2) in the stage of MCI, the network loses its ability to compensate, which leads to the disruption of the normal FC between rFT regions and the rest of the brain

Amyloid FC Analysis

The hyposynchronization within the precuneus agrees with previous literature on healthy elders^{41–45}, and is consistent with data from animal models^{22,23}, which have demonstrated that A β accumulation seems to disrupt the synaptic activity at the local level. In fact, although the relationship between A β deposition and synaptic function remains uncertain, the strong influence of A β in the destabilization of the cortical network activity⁴⁶ has been stated. For instance, through a Gabaergic dysfunction, characterized by an aberrant hyperactivity, likely as a result of diminished synaptic inhibition⁴⁷. Palop and Mucke (2010) drew molecular, cellular and functional mechanisms by which various forms of A β can lead to neuronal dysfunction (synaptic transmission, synaptic plasticity) in AD. These mechanisms of A β may affect neural circuit activity in preclinical stages triggering the functional impairment at the neurophysiological level. In addition, the strong hypersynchronization between the Pc and both IPLs (stronger in the case of the rIPL) in the HC+ group agrees with previous literature^{41,45,48,49}, and it has been usually categorized as a compensatory mechanism to maintain normal cognition.

Resumen de la Tesis

Introducción

Alrededor de 26 millones de personas en el mundo se encuentran afectadas por la Enfermedad de Alzheimer (EA)¹. Esta patología se caracteriza por la formación extracelular de placas beta-amiloide (A β), formación intracelular de ovillos neurofibrilares, pérdida neuronal, pérdida sináptica y presencia de neuroinflamación². De todos los procesos fisiopatológicos que subyacen a la EA, la acumulación de A β parece ser el rasgo neuropatológico más importante de la enfermedad junto con la fosforilación anormal de la proteína Tau³. Dicha acumulación de A β empieza décadas antes del comienzo de los síntomas clínicos de la EA⁴ y, de acuerdo con los nuevos criterios diagnósticos, constituye una de las dos características principales, junto con la hiperfosforilación de tau, del estado preclínico⁵ y del diagnóstico de Deterioro Cognitivo Leve (DCL) debido a la EA. Cerca del 20-40% de los sujetos cognitivamente sanos (CN) de entre 60-90 años son positivos en concentración de A β ^{7,8}, alcanzando el 28% en CN de 74 años de edad⁹.

La acumulación de A β está fuertemente afectada por el genotipo de la Apolipoproteína E (APOE) (para una revisión completa ver Kim, Basak, and Holtzman 2009), lo que constituye el principal factor de riesgo genético para la EA^{11,12}. Un estudio reciente^{11,12} ha analizado la forma en que el alelo $\epsilon 4$ puede influir en la neuropatología, ya que no sólo lo hace a través de un incremento de la acumulación de A β sino que también parece tener influencia, entre otras cosas, en el crecimiento de las neuritas, el deterioro del citoesqueleto, la hiperfosforilación de Tau, la disfunción mitocondrial y el daño en la sinaptogénesis. Las dos consecuencias principales de ser portador del alelo APOE- $\epsilon 4$ son: 1) un mayor riesgo de desarrollar la EA, en un factor que varía entre 3 y 12 dependiendo de si se es homo o heterocigoto; y 2) una reducción en la edad de comienzo de entre 10 a 20 para portadores de uno y dos alelos APOE- $\epsilon 4$ respectivamente¹⁴. Adicionalmente, los portadores del alelo $\epsilon 4$ muestran una mayor tasa de conversión a la EA desde etapas de deterioro cognitivo leve¹⁵.

El A β se acumula en áreas que han sido descritas como parte de la Red por Defecto (DMN, Default Mode Network)¹⁶⁻²⁰. Además, existe una relación directa entre la acumulación de A β y la actividad cerebral⁵⁰, y también con la conectividad funcional (FC)^{22,23}. Por todo ello, se ha establecido una cierta causalidad entre la distribución específica en la que se dispone el A β en el cerebro y su influencia en la comunicación neuronal, especialmente a nivel de sus redes²⁴. Por lo tanto, todos estos factores evidencian la necesidad de investigar en profundidad la actividad intrínseca del cerebro en relación con el estadio de

la EA, especialmente en la transición entre el estado de A β negativo y positivo que ocurre en sujetos sanos, momento en el que la prevención es aún posible²⁵.

Objetivos e hipótesis

El objetivo principal de esta tesis consistió en contribuir al entendimiento de los diferentes efectos que produce la presencia del alelo APOE- ϵ 4 y la acumulación de A β en la actividad cerebral en estado de reposo, medida con Magnetoencefalografía (MEG). De manera más específica, se centró el interés en saber cómo influyen estos factores en los estados preclínicos y prodrómicos de la EA y así encontrar nuevos biomarcadores no invasivos de la enfermedad. Además de este objetivo principal y como consecuencia de él, se ha trabajado en la mejora del análisis de datos de la MEG. Actualmente, el uso de la MEG no es muy común siendo predominante la utilización de la fMRI. Esto sucede a pesar de que la medida de la actividad cerebral en tiempo real que es proporcionada por la MEG es de vital importancia en el presente y futuro de la neurociencia, especialmente en un momento en el que la caracterización de la actividad cerebral se basa en un sistema compuesto por redes dinámicas que interaccionan entre sí⁵¹. La MEG es una técnica no invasiva que proporciona una medida directa de la actividad cerebral y combina una gran resolución temporal con una notable resolución espacial⁵², pero que requiere de una cierta pericia en el análisis, ya que la metodología no está completamente estandarizada, como ocurre en el caso de la fMRI.

La principal hipótesis de esta tesis fue que la presencia del alelo APOE- ϵ 4 y la acumulación de A β influyen en la actividad cerebral en reposo a dos niveles, en la distribución de la potencia espectral y en su organización funcional.

Así mismo, se esperaba que los sujetos PiB+ y portadores del alelo APOE- ϵ 4 mostrasen un patrón de potencia enlentecido, lo que incluiría un incremento en la potencia de los rangos de baja frecuencia y una reducción de la actividad en los rangos de alta frecuencia. Además, se hipotetizó que estos efectos afectarían a los sujetos con DCL en mayor medida.

Con respecto a los estudios de FC, se esperaba que los sujetos PiB+ y APOE 34 mostrasen una disminución de FC en la DMN, especialmente en bandas de altas frecuencias. En concordancia con la literatura existente se pensó que los sujetos CN34/CN+ pudieran mostrar algún tipo de mecanismo compensatorio que favoreciese el mantenimiento de su estado cognitivo.

Por último, se anticipó que los cambios biomagnéticos ocurridos en estos sujetos aparecerían antes de una neurodegeneración significativa (medida con FDG-PET o MRI).

Esto afianzaría la hipótesis de que el daño sináptico, con las subsiguientes alteraciones en las redes cerebrales, aparece en los estados preclínicos de la EA.

Resultados principales

En el primer estudio, se analizaron los registros MEG de 25 CN y 36 pacientes con DCL de su actividad cerebral basal con ojos cerrados. De acuerdo con su genotipo APOE, tanto los pacientes con DCL como los controles fueron divididos en portadores o no portadores del alelo APOE- ϵ 4. La potencia en las fuentes generadoras fue calculada mediante *beamforming*⁵³. Los pacientes con DCL mostraron un incremento significativo en la potencia relativa en los dominios de bajas frecuencias además de un decremento de potencia en los rangos de alta frecuencia. Los portadores del alelo APOE- ϵ 4 mostraron un incremento en la potencia relativa en el rango de frecuencia de 4.5-6.5 Hz en los lóbulos frontales. El incremento de potencia observado en los controles portadores del alelo APOE- ϵ 4 fue significativamente mayor comparado con los sujetos con DCL no portadores, mientras que los portadores con DCL mostraron la potencia espectral más alta en el rango de 4.5-6.5 Hz. Los valores de potencia más altos en los rangos de baja frecuencia correlacionaron con un peor rendimiento cognitivo en DCLs y controles.

En el segundo estudio, se analizaron los registros de MEG de actividad basal de 27 CN y 36 pacientes con DCL. Todos los participantes fueron divididos en portadores y no portadores del alelo APOE- ϵ 4. La FC en las bandas de frecuencia clásicas fue calculada mediante el algoritmo *Phase Locking Value* (PLV) en el espacio de fuentes. Se empleó el atlas Harvard-Oxford⁵⁴ para delimitar las regiones cerebrales. El análisis estadístico se realizó mediante un test ANOVA (con diagnóstico y APOE de factores principales) en cada banda de frecuencia. El efecto debido al diagnóstico consistió en una disminución de la FC en las bandas de frecuencias altas en los sujetos con DCL, afectando regiones temporales mediales y parietales. El efecto asociado al genotipo de APOE produjo un decremento de la FC de larga distancia en la banda delta en los portadores del alelo APOE- ϵ 4. Por último, el efecto de interacción mostró un patrón de FC en las regiones fronto-temporales derechas que se interpretó como un proceso de compensación/disrupción en los portadores del alelo APOE- ϵ 4. Para algunos resultados, especialmente en los debidos al diagnóstico, se hallaron correlaciones con el grado de deterioro cognitivo.

En el tercer estudio, se analizaron las variaciones espectrales de la actividad cerebral basal debidas a la presencia de una acumulación de A β significativa. La muestra original consistió en 37 CN y 27 pacientes con DCL. En base a las imágenes de amiloide, se obtuvieron cuatro grupos: 25 CN PiB-PET negativo (CN-), 12 CN-PiB-PET positivo (CN+), 11 DCL PiB-PET negativo (DCL-) y 15 DCL PiB-PET positivo (DCL+). Los perfiles espectrales de las regiones de interés (ROIs) de la DMN fueron calculados por medio de *beamforming*, y

las diferencias en potencia relativa se evaluaron por medio de una ANCOVA con la edad como covariable. Los resultados indicaron la existencia de una relación entre el marcador de A β , la potencia relativa y el grado de severidad de la enfermedad. El efecto asociado al diagnóstico mostró el típico patrón de “enlentecimiento”, consistente en un incremento en regiones posteriores del córtex (incluyendo parietal lateral y el córtex retrosplenial (RSC)) en los rangos de frecuencia de delta y teta (LFR), además de un decremento de la actividad en banda alfa (HFR). La carga de A β mostró un incremento significativo en la potencia del rango alfa en regiones fronto-mediales en ambos grupos PiB+. Al particularizar para estudiar los efectos debido al diagnóstico y al grado de acumulación de A β en los cuatro subgrupos se observó que en las comparaciones por pares se dibujaba un paisaje más complejo. Mientras que el incremento en potencia de alta frecuencia en las regiones fronto-mediales parecía ser un marcador con alta especificidad de la carga específica de amiloide, el aumento de la potencia en baja frecuencia en regiones posteriores apareció como un marcador de deterioro cognitivo. Además, la disminución en potencia de HFR encontrada en áreas posteriores en los sujetos con DCL parecía ser debida a la influencia de los DCL-. Estas tendencias se confirmaron mediante los patrones de correlación observados. Interesantemente, los valores medios de acumulación de A β normalizada (mcSUVR) tampoco mostraron ninguna correlación significativa con ningún test cognitivo.

En el cuarto y último estudio se analizó la actividad cerebral en reposo de 45 ancianos sanos, física y cognitivamente, divididos en función del grado de acumulación de A β en dos subgrupos: 32CN- y 13 CN+. La FC fue analizada en el espacio de fuentes en las bandas de frecuencia clásicas en los ROIs que conforman la DMN. Se realizó un análisis basado en *clústeres* entre los valores de FC, estimada mediante PLV, de ambos grupos y los resultados mostraron que la acumulación de A β en la etapa preclínica-1 de la EA ejerce una gran importancia sobre la integridad de la DMN, específicamente en la red funcional del precuneus. Estos cambios mostraron ser dependientes de la frecuencia e involucraron conectividad tanto de larga como de corta distancia. Además, las medidas de FC resultaron estar muy correlacionadas con los valores de mcSUVR. Básicamente se hallaron dos tipos de resultados: 1) en la banda delta, el precuneus mostró una disminución de FC a nivel intra-ROI en el grupo CN+; 2) la comunicación entre el Pc y ambos IPL se vio incrementada en los sujetos CN+.

Discusión

Análisis de Potencia

Los resultados presentados en esta tesis añadieron información sobre la influencia del genotipo APOE y la acumulación de A β en la actividad cerebral espontánea registrada con

MEG en pacientes con DCL y en sujetos sanos. Como era esperable, los pacientes con DCL mostraron un aumento significativo en la potencia relativa en el rango de frecuencias bajas, acompañado por una disminución de potencia en los rangos de frecuencia de alfa y beta alta^{26,55}. Más importante aún, los portadores del alelo APOE- ϵ 4 mostraron un aumento significativo en la potencia relativa dentro del rango de frecuencia de 4.5-6.5 Hz en el SFG, y los sujetos PiB+ mostraron una potencia incrementada en el rango alfa en el córtex frontal medial y en el córtex cingulado anterior. Estos incrementos aparecieron tanto en los sujetos DCL como en los CN, pareciendo indicar que ambos factores tienen una influencia específica en la actividad cerebral basal medida con MEG. La presencia del alelo APOE- ϵ 4 produjo un patrón “enlentecido” que podría estar relacionado con un déficit colinérgico^{28,56}. Por otro lado, la acumulación de A β podría estar reflejando una “anteriorización” de la actividad alfa^{33,57-59}.

Análisis de FC y APOE

En concordancia con literatura previa en estado basal, en este estudio la FC en bandas alfa y beta se encontró disminuida tanto en zonas parietales como hipocampales en el grupo de sujetos con DCL, en comparación con el grupo control³⁴⁻³⁷. El efecto de interacción entre el diagnóstico y el genotipo de APOE subrayó el papel en los cambios de FC en las bandas de baja frecuencia (delta y teta) de las regiones fronto-temporales derechas (rFOC y rTP, en adelante denominadas rFT). Este resultado, consistió en una hipersincronización para los CN34 y una hiposincronización para los DCL34 en comparación con los dos grupos con genotipo APOE 33. Este efecto podría estar reflejando un proceso de compensación/disrupción debido al efecto específico del alelo APOE- ϵ 4 en la red anterior del hipocampo³⁸. Por otra parte, las regiones FT ya habían sido descritas previamente como especialmente vulnerables a la acumulación de A β ^{18,24,39}, y además, se ha demostrado que los portadores del alelo APOE- ϵ 4 (tanto pacientes como controles) muestran una mayor deposición de A β en la corteza orbito-frontal en comparación con los no portadores⁴⁰. Por lo tanto, parece que el daño potencial asociado con la acumulación de A β podría estar causado por los siguientes factores: 1) en la etapa no sintomática, los portadores del alelo APOE- ϵ 4 tratarían de compensar incrementando la FC; 2) en la etapa con DCL, la red perdería su capacidad para compensar, lo que conduciría a la interrupción de la FC normal entre regiones rFT y el resto del cerebro.

Análisis de FC y amiloide

La hiposincronización dentro del precuneus concordaba con la literatura existente realizada con ancianos sanos⁴¹⁻⁴⁵, y era consistente con estudios en modelos animales^{22,23}. Estos últimos han demostrado que la acumulación de A β parece dañar la actividad sináptica a nivel local. De hecho, aunque la relación entre la acumulación de A β y la función sináptica sigue siendo incierta, se ha señalado la existencia de una fuerte relación

entre la acumulación de A β y la desestabilización de la actividad de la red cortical⁴⁶. Por ejemplo, esto puede ocurrir a través de una disfunción gabaérgica caracterizada por una hiperactividad aberrante surgida a consecuencia de una disminución de la inhibición sináptica⁴⁷. En un importante artículo⁴⁶, se han descrito mecanismos moleculares, celulares y funcionales mediante los cuales diversas formas de A β pueden conducir a la disfunción neuronal, tanto a nivel de transmisión sináptica como de plasticidad sináptica, en la EA. Por último, la fuerte hipersincronización entre el Pc y los dos IPL (más fuerte en el caso del rIPL) en el grupo CN+ concordaba con literatura previa^{41,45,48,49} y ha sido categorizada con frecuencia como un mecanismo compensatorio que mantiene el estado cognitivo.

You can't connect the dots looking forward; you can only connect them looking backwards. So you have to trust that the dots will somehow connect in your future.

S. Jobs

1- Introducción

“la corteza cerebral semeja un jardín poblado de innumerables árboles, las células piramidales, que gracias a un cultivo inteligente pueden multiplicar sus ramas, hundir más lejos sus raíces y producir flores y frutos cada día más exquisitos”. Santiago Ramón y Cajal. Revista de Ciencias Médicas. 1894.

1.1 Escalas de la actividad cerebral

1.1.1 Microescala: Neurobiología

Santiago Ramón y Cajal posiblemente estaría muy satisfecho al observar el devenir de la ciencia que él mismo inició hace ya más de 100 años cuando estableció que el tejido nervioso está constituido por una red de células denominadas neuronas. Este hallazgo conocido como la “doctrina de la neurona”⁶⁰ constituye la base fundamental del sistema nervioso y establece que las neuronas son entidades independientes desde el punto de vista anatómico, genético, fisiológico y metabólico. Pero Cajal también se sorprendería del impacto en la neurociencia actual de muchas de sus ideas^{61,62}, pues continúan sustentando los pilares de la investigación más vanguardista. El principio de polarización dinámica estableció la dirección del flujo de corriente eléctrica (desde las dendritas hacia el axón), y el principio de conexión específica determinó que las conexiones no tienen lugar de forma indiscriminada sino que se dan entre neuronas específicas y en lugares determinados. Es decir, Cajal no sólo mostró a un nivel nunca visto la anatomía del sistema nervioso sino que también describió el funcionamiento del mismo (Figura 1) sentando además las bases de conceptos que hoy día están en pleno auge como la plasticidad de las conexiones neuronales, la regeneración neuronal o la neurogénesis.

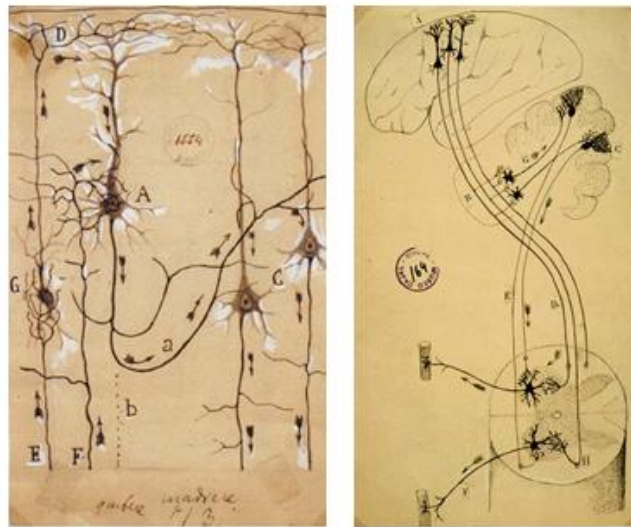


Figura 1.1. Izquierda: Flujo de la señal eléctrica en una neurona piramidal. Derecha: Vía motora y dirección del flujo de electricidad. Fuente: Instituto S.R. y Cajal (Madrid).

Células del sistema nervioso

El sistema nervioso está constituido fundamentalmente por dos tipos de células: las células gliales (glía) y las neuronas.

Glía

Son células encargadas, fundamentalmente, de dar soporte a las neuronas. A pesar de que aún no está absolutamente clarificado, parece que estas células, a diferencia de las neuronas, no intervienen en el procesamiento de información aun siendo entre 10 y 50 veces más numerosas que las neuronas. Existen distintos tipos de células gliales, cada una de las cuales desempeña una función distinta: astrocitos, oligodendrocitos células de Schwann, células de microglía y los endoteliales (Figura 1.2).

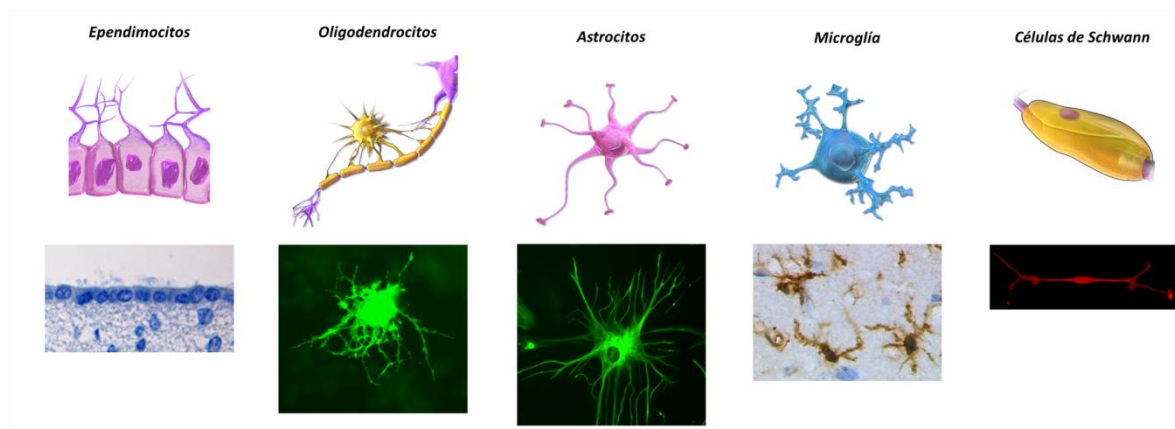


Figura 1.2. Células Gliales.

Los astrocitos son las células más numerosas del sistema nervioso. Aportan aislamiento estructural a las neuronas y sus sinapsis, las nutren y mantienen una concentración adecuada de iones de potasio, absorbiendo los excedentes existentes en el medio extracelular y así evitando posibles despolarizaciones de neuronas vecinas. Algunas de las prolongaciones de los astrocitos se enrollan alrededor de vasos sanguíneos y otras lo están sobre distintas partes de las neuronas, de este modo reciben glucosa desde los capilares, que transforman a lactato y así pueden liberarlo en el líquido extracelular que rodea a las neuronas para que estas lo incorporen y lo transporten a sus mitocondrias para obtener energía.

Los astrocitos están también implicados en el control de la barrera hematoencefálica (BHE), esta es una formación de células que se encuentra entre los vasos sanguíneos y el sistema nervioso central. La BHE es considerada una barrera filtradora con permeabilidad selectiva que contiene regiones especializadas de alta conductancia que controlan el paso

de nutrientes, oxígeno, vitaminas y hormonas hacia el tejido nervioso y a la vez impide que sustancias tóxicas pasen a través de ella y alcancen el sistema nervioso.

Tanto los oligodendrocitos en el sistema nervioso central (SNC) como las células de Schwann en el sistema nervioso periférico (SNP) se encargan de aislar los axones envolviéndolos con sus prolongaciones que se enrollan concéntricamente formando una espiral apretada que conforma la vaina de mielina. Un único oligodendrocito puede mielinizar hasta 50 segmentos de distintos axones en el SNC, mientras que cada célula de Schwann mieliniza únicamente un segmento (de aproximadamente un 1 mm de largo) de un único axón en el SNP (Figura 1.3). La mielina, formada por un 80% de lípidos y un 20% de proteínas, junto con el diámetro del axón son los dos parámetros que incrementan la velocidad de conducción del potencial de acción. Los tramos de axón que quedan descubiertos de mielina se denominan *Nodos de Ranvier*. Esta configuración de los axones de vainas de mielina y *Nodos de Ranvier* caracterizan la señal saltatoria característica del potencial de acción que se describirá más adelante.

Como su nombre indica, las células de microglía son las células de menor tamaño. Cumplen una amplia variedad de tareas dentro del SNC, principalmente relacionadas con la fagocitosis y la respuesta inmune. En zonas lesionadas, las células de microglía se dividen, aumentan de tamaño y adquieren facultades fagocitarias, de manera que pueden eliminar las células dañadas y la mielina alterada. Estas células también cumplen un rol clave en procesos inmunológicos del SNC en los que se requiere de una con capacidad citotóxica. Esta secreción citotóxica está dirigida a la destrucción de las neuronas infectadas por virus y bacterias pero colateralmente también puede causar daño neuronal en células sanas, por esta razón las células de microglía son consideradas hoy día como un elemento clave en la patogenia de enfermedades neurodegenerativas como el Alzheimer⁶³.

Por último las células endoteliales se encargan de la generación del líquido cefalorraquídeo (LCR) y en algunas regiones, gracias a su naturaleza ciliada, intervienen en la circulación del mismo.

Neuronas

La neurona (célula nerviosa) es la unidad elemental del procesamiento y transmisión de la información en el sistema nervioso. Existen muchos tipos de neuronas en general diferenciadas por la función que realizan, pero en todas es posible distinguir morfológicamente cuatro partes: el cuerpo celular o soma, las dendritas, el axón y los terminales presinápticos (Figura 1.3).

En el cuerpo celular (o soma) se encuentra el núcleo, que contiene la información genética, y otros orgánulos celulares, entre ellos una gran cantidad de mitocondrias necesarias para cubrir las necesidades energéticas de las neuronas (requieren entre un 15 y un 20% de la glucosa y oxígeno corporal para el metabolismo aeróbico generador de ATP). Desde el cuerpo celular emergen generalmente dos tipos de prolongaciones: un único axón y las dendritas.

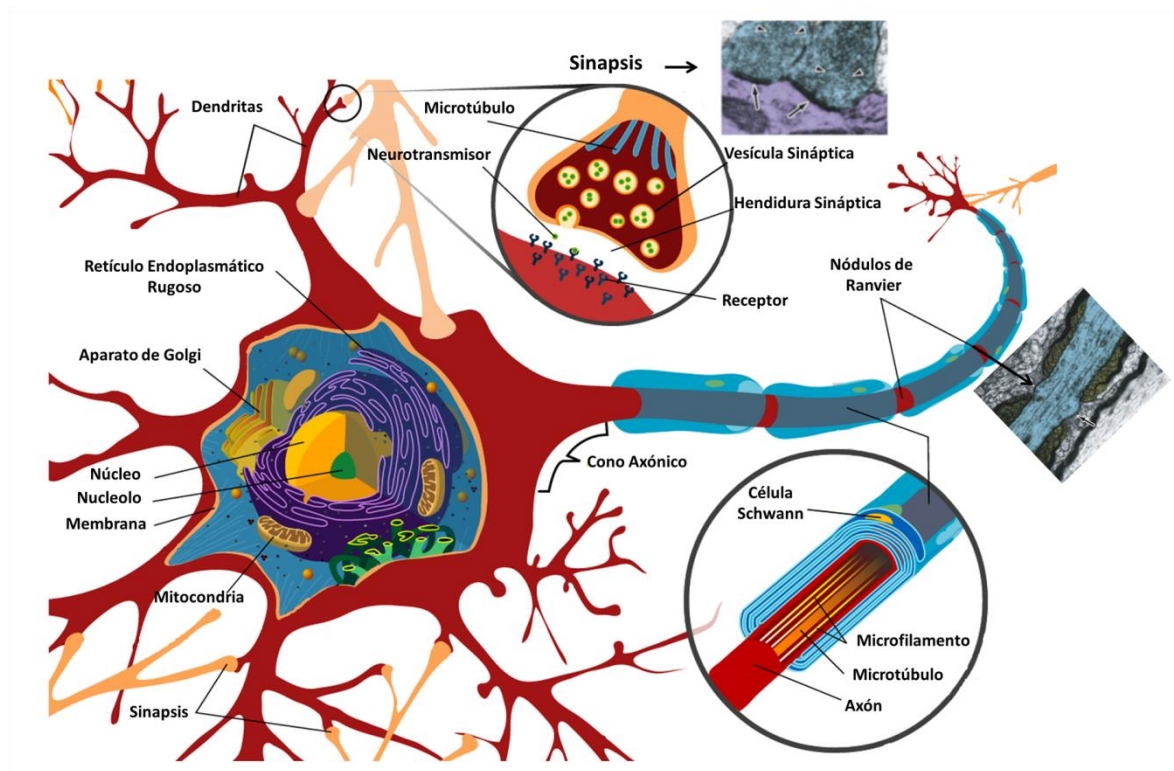


Figura 1.3. Partes de una neurona. Fuente micrografías⁶⁴.

El axón es una prolongación tubular (con un diámetro que puede ser de 0.2 a 20 μm) que crece a partir del *cono axónico*, lugar donde se genera el potencial de acción que es conducido a lo largo del axón hasta los botones terminales. Un axón puede ramificarse en miles de terminales presinápticos y finalizar en una zona altamente localizada o ramificarse a través de muchas regiones dispersas del encéfalo. Para mejorar su conductividad se encuentran recubiertos por vainas de mielina espaciadas entre sí por secciones axónicas descubiertas de 0.5 μm de espesor, los *nodos de Ranvier*, donde existen canales de sodio que permiten la reiniciación de los potenciales de acción.

Las dendritas constituyen la mayor parte de la superficie receptora de la neurona. En sus extremos aparecen unas estructuras denominadas espinas dendríticas en las que tiene

lugar la sinapsis. La composición molecular de las dendritas es similar a la del cuerpo celular presentando los mismos orgánulos necesarios para la síntesis proteica en las bases de las espinas dendríticas.

Origen de los campos electromagnéticos neuronales: comunicación neuronal

Modelización del funcionamiento neuronal

A finales del siglo XIX, Ramón y Cajal demostró el carácter independiente de la neurona. Hasta ese momento se consideraba al sistema nervioso una red, un tejido conectado en lugar de un sistema compuesto por células discretas. Formuló dos teorías con las que explicó el funcionamiento de las neuronas; en primer lugar la *Teoría de Polarización Dinámica* postula que cada neurona posee un aparato receptor, el cuerpo y las prolongaciones dendríticas; un aparato de emisión, el axón y un aparato para la distribución, la arborización terminal de la fibra nerviosa. Además completó la teoría con la afirmación “las señales fluyen en una dirección predecible y constante y sólo en ella”. En segundo lugar el *Principio de la Especificidad de Conexiones* que rige la forma en que una neurona se comunica con otra mediante dos preceptos básicos: el primero es que no hay continuidad citoplasmática entre las dos células¹ pues existe una separación denominada hendidura sináptica (Figura 1.3); y el segundo que las células nerviosas se comunican con dianas postsinápticas concretas en lugares especializados de contacto sináptico. Por todo ello recibió el Nobel en 1906 junto a Golgi, inventor del método de tinción (impregnación argéntica) cuya característica más notable consiste en teñir únicamente un 1% de las células de una muestra haciendo posible la visualización de neuronas independientes.

Potencial de membrana

La membrana citoplasmática ($\approx 10\text{nm}$ de espesor) posee características de cristal líquido y actúa como aislante separando dos soluciones: el líquido extracelular y el intracelular, o también denominado citoplasma. Como resultado de la permeabilidad selectiva de dicha membrana, de la asimetría en las concentraciones iónicas de sodio, potasio y cloro a ambos lados de la membrana, y de la acción de las bombas sodio-potasio, se produce una distribución desigual de las cargas a través de la membrana. Como consecuencia, el interior de la neurona presenta mayor carga negativa en comparación con el exterior, siendo esta diferencia de potencial en estado de reposo de $\approx -70\text{ mV}$.

La bomba más importante es la de Na-K que en cada ciclo mueve tres iones Na^+ al exterior y 2 K^+ al interior de la célula. Las concentraciones intracelulares de Na^+ , K^+ y Cl^- son respectivamente 20, 140 y 20 mmol/litro, mientras que las extracelulares oscilan entre 5-

¹ Hoy se sabe que hay un tipo de sinapsis denominada “sinapsis eléctrica” en la que ambas neuronas están físicamente conectadas mediante proteínas de canal.

140 mmol/litro⁶⁵. El potencial eléctrico transmembranal de equilibrio se produce cuando las corrientes ohmicas, de difusión y de bombeo están equilibradas para cada ión. En el estado inactivo la membrana es más permeable al potasio por tanto el coeficiente de difusión (P) del primero será mucho mayor. La concentración (C) de cada ión sigue la expresión de Boltzman para el equilibrio térmico:

$$C \sim e^{\left(\frac{-|e|V}{k_B T}\right)} \quad [1.1]$$

de la que se obtiene la ecuación de Nerst:

$$V = V_{in} - V_{ext} = \frac{k_B T}{|e|} \ln \left(\frac{C_{ext}}{C_{in}} \right) \quad [1.2]$$

en la que V_{in} y V_{ext} son los potenciales a ambos lados de la membrana, $k_B T$ es la energía térmica y e es la carga del electrón. Al introducir en la ecuación [1.2] los potenciales de membrana anteriormente indicados y para una temperatura de 310 K, los potenciales de equilibrio para los iones Na^+ , K^+ y Cl^- son respectivamente 52mV, -89mV y -48mV. Como los tres iones han de tenerse en cuenta a la vez la expresión para el potencial de membrana está dada por la ecuación de Goldman:

$$V = \frac{k_B T}{|e|} \ln \left(\frac{P(K^+)C_{ext} + P(Na^+)C_{ext} + P(Cl^-)C_{ext}}{P(K^+)C_{in} + P(Na^+)C_{in} + P(Cl^-)C_{in}} \right) = -70mV \quad [1.3]$$

Potencial de acción

La comunicación entre neuronas ocurre por medio del potencial de acción (PA) o impulso nervioso. El PA es una rápida oscilación, de alrededor de 1ms, de la polaridad de la membrana plasmática con dos tendencias, primero de negativo a positivo o despolarización, y después otra vez a negativo, repolarización. El impulso, que se genera en el cono axónico, se propaga a lo largo del axón en una sola dirección hasta el botón terminal donde se produce la sinapsis con otra neurona. Al producirse la sinapsis, se libera un neurotransmisor que es captado por el receptor específico en la neurona postsináptica.

Si la membrana plasmática recibe un impulso que le hace alcanzar el umbral de excitación (≈ -55 mV) es cuando el PA se dispara. Si el estímulo que recibe no le hace despolarizarse hasta el umbral de excitación, el PA no se originará, por eso se le considera un proceso de “todo o nada”. Una vez alcanzado el umbral, el PA se produce en tres fases: 1) Despolarización, los canales de Na^+ de la membrana se abren y el Na^+ se precipita hacia el interior impulsado por las fuerzas de difusión y electrostáticas, lo que produce un cambio en la polaridad entre el interior y el exterior, dejando el líquido extracelular negativo respecto al interior (V en torno a +40 mV). En el momento en el que el potencial de membrana es máximo, los canales de Na^+ se hacen refractarios y en ese momento no

puede entrar más Na^+ en la célula. 2) Repolarización, los canales de K^+ controlados por voltaje se abren y el K^+ sale al exterior de la célula por fuerzas de difusión y electroestáticas. Esta salida de cationes hace que vaya recuperándose el potencial de reposo. 3) Hiperpolarización, el potencial de membrana sobrepasa su valor de reposo (-70 mV) y retorna a su valor normal gradualmente. Hasta que no recupere su valor de reposo, la neurona se encuentra en un estado refractario, periodo en el que no puede volver a producirse otro PA. (Figura 1.4).

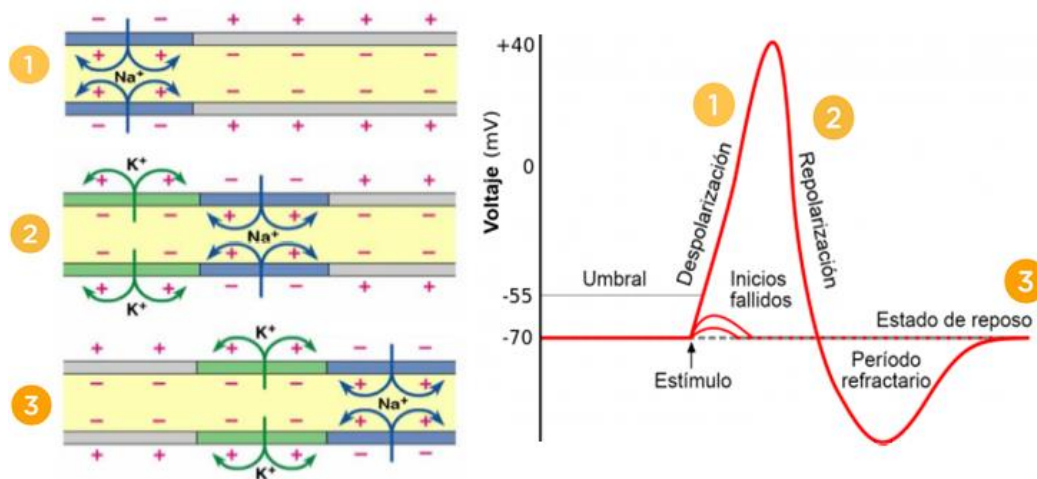


Figura 1.4. Fases del potencial de acción

Como se ha dicho anteriormente, el PA se origina en el cono axónico de la neurona, se propaga a lo largo de la vaina de mielina y vuelve a desencadenarse en el siguiente *Nodo de Ranvier*, y de este modo durante todo el axón hasta que llega a los botones terminales. Este tipo de conducción se denomina saltatoria. La velocidad de conducción del impulso está determinada por dos parámetros, la mielinización del axón y su diámetro. La mielina aísla el axón impidiendo que las corrientes intracelulares escapen del mismo y en consecuencia incrementa la distancia que dichas corrientes pueden recorrer de forma pasiva. Por otro lado, las dos características que modulan el PA son la frecuencia de disparo y su intervalo temporal. La especificación del tipo de señal (si es, por ejemplo, visual o motora) viene dada por la vía nerviosa por la que es transmitido el PA.

Comunicación interneuronal: sinapsis

La sinapsis son las conexiones entre los botones terminales de los extremos de las ramas del axón de una neurona presináptica y la membrana de la postsináptica. Pueden darse en tres lugares distintos: sobre las dendritas, sobre el soma o sobre otros axones (axodendríticas, axosomáticas y axoaxónicas). La membrana presináptica, que se

encuentra al final del botón terminal, se sitúa frente a la membrana postsináptica, que está en la neurona que recibe el mensaje. Estas dos membranas se enfrentan a través de del espacio sináptico, hendidura que contiene líquido extracelular, en el que se difunde el neurotransmisor.

Cuando se transmiten los PAs a lo largo del axón, los canales de Ca^{2+} controlados por voltaje se abren y el Ca^{2+} entra en la célula lo que produce que cierta cantidad de vesículas sinápticas localizadas delante de la membrana presináptica se fusionen con ella y luego se rompan, liberando su contenido, el neurotransmisor, en el espacio sináptico. El neurotransmisor se difunde a través del espacio sináptico y se une a moléculas proteicas especializadas, localizadas en la membrana postsináptica denominadas receptores postsinápticos.

Potenciales postsinápticos

Los potenciales postsinápticos son breves variaciones en la polaridad de la membrana debidas a la activación de los receptores postsinápticos por moléculas de un neurotransmisor. Lo que determina el carácter del potencial postsináptico en una sinapsis son las características de los receptores postsinápticos, en concreto, el tipo específico de canal iónico que abren (Na^+ , K^+ , Cl^- , Ca^{2+}). Los dos tipos de potenciales postsinápticos son:

- Potencial postsináptico excitatorio: se genera si el neurotransmisor produce una despolarización en la membrana neuronal, por ejemplo, el ácido glutámico. En este caso se abren los canales de Na^+ y la corriente fluye hacia el interior de la célula.
- Potencial postsináptico inhibitorio: se genera si el neurotransmisor produce una hiperpolarización en la membrana neuronal, por ejemplo, el GABA. En este caso son los canales de K^+ y de Cl^- los que se abren y la corriente resultante fluye hacia el exterior de la célula.

La intensidad de la corriente decrece con la distancia a la hendidura sináptica con una constante de decaimiento:

$$\lambda = (g_m r_s)^{-1/2} \quad [1.4]$$

donde g_m es la conductancia de la membrana y r_s la resistencia del fluido intracelular ⁶⁶. Para una neurona cortical típica $\lambda \approx 0.1\text{-}0.2$ mm. El potencial postsináptico puede ser aproximado por un dipolo de corriente orientado a lo largo de la dendrita con $Q = \lambda I$, donde $I = \Delta V / \lambda r_s$ y siendo $r_s = 4 / (\pi d^2 \sigma_{in})$ se llega a:

$$Q = \pi d^2 \sigma_{in} \frac{\Delta V}{4} \quad [1.5]$$

donde d es el diámetro de la dendrita ($\approx 1\mu\text{m}$) y σ_{in} la conductividad intracelular ($1\Omega^{-1}\text{m}^{-1}$). Si $\Delta V = 25\text{mV}$ entonces $Q \approx 20 \text{ fAm}$ para un único potencial postsináptico. Esto quiere decir que se necesitan unos 10^5 potenciales postsinápticos activos al mismo tiempo para generar un momento dipolar de unos 10nAm , que es lo necesario para explicar la intensidad de los campos magnéticos medidos fuera del cráneo.

1.1.2 Mesoescala: Neuroimagen

En el punto anterior se han descrito los mecanismos celulares que subyacen a la actividad electromagnética cerebral. En la mesoescala las unidades funcionales pasarán a ser comunidades neuronales cuya actividad está coordinada tanto síncrona como espacialmente. Esta actividad emergente, tiene la magnitud suficiente como para poder ser medida por las técnicas de neuroimagen. Además, en este apartado se describirán algunas técnicas de neuroimagen estructural mediante las cuales podremos caracterizar el sustrato neurobiológico que genera la actividad en el primer caso.

Campos electromagnéticos cerebrales

Las principales comunidades de neuronas que actúan como unidades funcionales son aquellas constituidas por neuronas piramidales de la corteza cerebral, pues éstas son capaces de generar “campos abiertos” de acuerdo a la definición clásica de Rafael Lorente de No⁶⁷. Estas neuronas, que suponen alrededor de un 70% del total de la corteza cerebral, tienen sus dendritas apicales distribuidas paralelamente de forma que la corriente neta resultante es perpendicular a la superficie cortical y genera un campo magnético a su alrededor de un modo similar a como ocurre en un cable (Figura 1.5, B y C).

Como se muestra en el modelo representado en la (Figura 1.5, E), existen tres tipos de corrientes a tener en cuenta como posibles generadoras del campo magnético extracraneal. Los potenciales de acción son corrientes con una duración muy corta (1-2ms) y una naturaleza cuadrupolar (decaen con $1/r^4$) con lo que la posibilidad de que los campos asociados puedan interferir constructivamente es muy reducida. Las corrientes iónicas en la hendidura sináptica son débiles (en comparación con las otras corrientes) y están distribuidas aleatoriamente, lo que facilita la cancelación mutua de los campos generados por las mismas. La última es la corriente intracelular del potencial postsináptico, también llamada corriente principal (J_p). Consiste en un flujo de iones dentro de la membrana que se desplazan una distancia mucho menor a la longitud de la propia dendrita o axón⁶⁸. Dura en torno a 10ms y decae con $1/r^3$ debido a su naturaleza dipolar. Es la que se considera como la fuente primaria del campo magnético extracraneal⁶⁶.

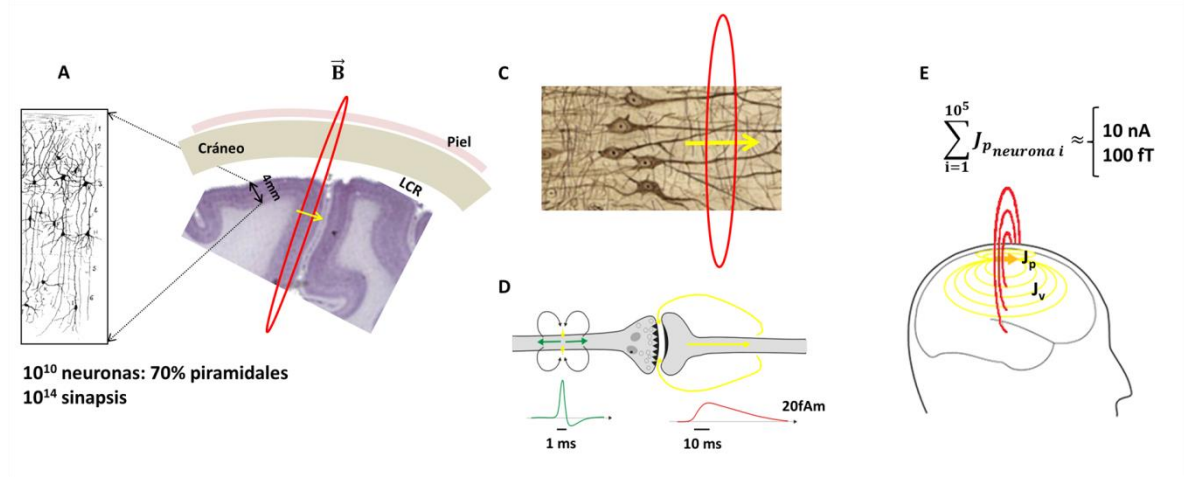


Figura 1.5. Diagrama en el que se muestra un segmento de corteza cerebral cuya longitud oscila entre los 3 y 4 mm (A). Dicho segmento, dada la distribución espacial de sus dendritas apicales (C), sólo generará un campo magnético normal a la superficie de la cabeza (línea roja) si se encuentra en un surco (B). Únicamente los potenciales postsinápticos (D) durante lo suficiente como para que se pueda producir una suma de los campos neuronales correspondientes. Para generar un campo magnético en superficie detectable es necesario que unas 100000 neuronas alineadas adecuadamente disparen sincronamente (E).

Como se puede ver en la (Figura 1.5, E) además de la corriente intracelular J_p , existe una corriente de volumen denominada J_v . Estas son las fuentes principales de la señal medida con electroencefalografía (EEG). La corriente total en cualquier punto del conductor será por tanto la suma de ambas:

$$J = J_p + J_v = J_p + \sigma E \quad [1.6]$$

donde σ es la conductividad que en los modelos que se utilizaran a lo largo de este trabajo será considerada constante, de forma que el cerebro podrá ser considerado como un conductor homogéneo⁶⁹.

Finalmente, las corrientes J_p pueden ser aproximadas por un dipolo de corriente caracterizado por una intensidad I y un vector L que indica la dirección y longitud del dipolo. De esta manera el momento dipolar queda definido como:

$$Q = IL \quad [1.7]$$

Como el dipolo de corriente es una fuente puntual con Q constante, la densidad de corriente perteneciente a un dipolo situado en el punto x_0 será:

$$J^i = Q\delta(x - x_0) \quad [1.8]$$

Este modelo es una de las premisas de partida de la metodología empleada para resolver el problema inverso. La base teórica será desarrollada en el capítulo de métodos (2.3.1).

Bandas de frecuencia

Ya se ha visto que las fuentes principales de los sistemas EEG/MEG son las corrientes iónicas generadas por procesos bioquímicos a nivel celular⁷⁰. Y también que de manera general se establece que el electroencefalograma es más sensible a las corrientes de volumen extracelulares mientras que la magnetoencefalografía lo es a las corrientes primarias intracelulares. A una escala de observación mayor, la actividad electromagnética parece estar relacionada con la interacción entre el tálamo y la corteza cerebral. El primero es fundamental en la estimulación de los ritmos corticales mientras que la segunda es clave en la modulación de dichos ritmos⁷¹.

Históricamente las señales electromagnéticas cerebrales han sido descritas en bandas de frecuencia. Los límites de dichas bandas fueron establecidos arbitrariamente sin el conocimiento de sus propios mecanismos neurofisiológicos. Sin embargo estudios posteriores han confirmado que esos límites “arbitrarios” encajan notablemente bien con los extraídos del análisis de las señales electromagnéticas⁷⁰. Las bandas de frecuencia más comunes son: ondas de ultra baja frecuencia (< 0.2Hz); delta (0.2-3.5Hz); teta (4-7.5Hz); alfa (8-13Hz); beta (14-30Hz); gamma (30-90Hz) y las ondas de ultra alta frecuencia (> 90Hz). Cada una de ellas ha sido asociada a distintas funciones o estados cognitivos. A continuación se realiza una breve descripción de cada una de ellas basada en⁷²⁻⁷⁴.

Delta

Las oscilaciones delta reflejan actividad de baja frecuencia e históricamente han sido relacionadas con el sueño profundo. También se dan en algunos estados comatosos, en epilepsia y parecen indicar en determinadas circunstancias la existencia de una neuropatología subyacente. Además es el ritmo predominante en niños menores de 2 años. Conforme se van cumpliendo años se produce una reducción paulatina de la actividad de baja frecuencia y un aumento de la de alta frecuencia. Estas oscilaciones, se localizan fundamentalmente en las regiones frontales en adultos y posteriores en niños.

Teta

Los ritmos teta se observan en algunos estados de sueño y en general durante estados de reposo como por ejemplo la meditación. También están presentes durante procesos asociados con la memoria mediando la comunicación entre el hipocampo y la corteza. En función de su distribución en el cerebro, la actividad teta en estado de vigilia puede dividirse en dos componentes. El primero está distribuido a lo largo de todo el cráneo y

está ligado con procesos de baja atención como en momentos de somnolencia. El segundo está centrado en la corteza frontal y está relacionado con la atención, con actividades que requieran un esfuerzo mental y en general con el procesamiento efectivo de la información.

Alfa

En estado de reposo, con los ojos cerrados, se puede registrar en la región posterior del cerebro un intenso ritmo alfa. Este ritmo disminuye abruptamente al abrir los ojos o concentrarse, fenómeno denominado desincronización alfa. También puede verse reducido en estado de somnolencia. Por otra parte, existe cierta evidencia de que el ritmo alfa parece estar dividido funcionalmente en dos sub-bandas. La sub-banda alfa baja (8-10Hz) parece desincronizarse ante un requerimiento atencional inespecífico, mientras que la desincronización de la sub-banda alfa alta (10-12Hz) suele estar relacionada con la eficiencia en tareas de memoria semántica, o de procesos que requieren una atención específica.

Beta

La actividad beta suele hallarse distribuida simétricamente en ambos hemisferios cerebrales y en general parece reemplazar a alfa durante los estados de activación cognitiva y especialmente en estados de alerta. También está relacionada con la actividad en regiones motoras del cerebro.

Gamma

Los ritmos gamma están asociados con procesos complejos de integración de la información entre distintas partes del cerebro como por ejemplo, durante la integración de la información proveniente de diferentes sentidos. Gamma es un indicador directo de activación cerebral pues es el ritmo que mayor correlación muestra con el metabolismo de glucosa. La actividad gamma está muy relacionada con teta, ya que en general se ha encontrado que las ráfagas de ondas gamma vienen moduladas por la actividad teta.

Magnetoencefalografía

La Magnetoencefalografía (MEG) se emplea para medir los campos magnéticos extracraneales asociados a la actividad neuronal, con una magnitud oscila entre 1fT y 100pT en un ambiente con un ruido de fondo muy fuerte (al menos $\approx 10\mu\text{T}$) 68. Para llevar a cabo este propósito es necesaria una compleja infraestructura que no sólo incluye al propio sistema MEG (Figura 1.6). Básicamente un laboratorio MEG está compuesto por el propio sistema MEG instalado en el interior de una habitación aislada necesaria para evitar el ruido ambiental (Figura 1.6, D), una serie de sistemas de estimulación para la realización de los experimentos (Figura 1.6, C) y una serie de sistemas electrónicos para el procesado y adquisición de la señal MEG (Figura 1.6, A).

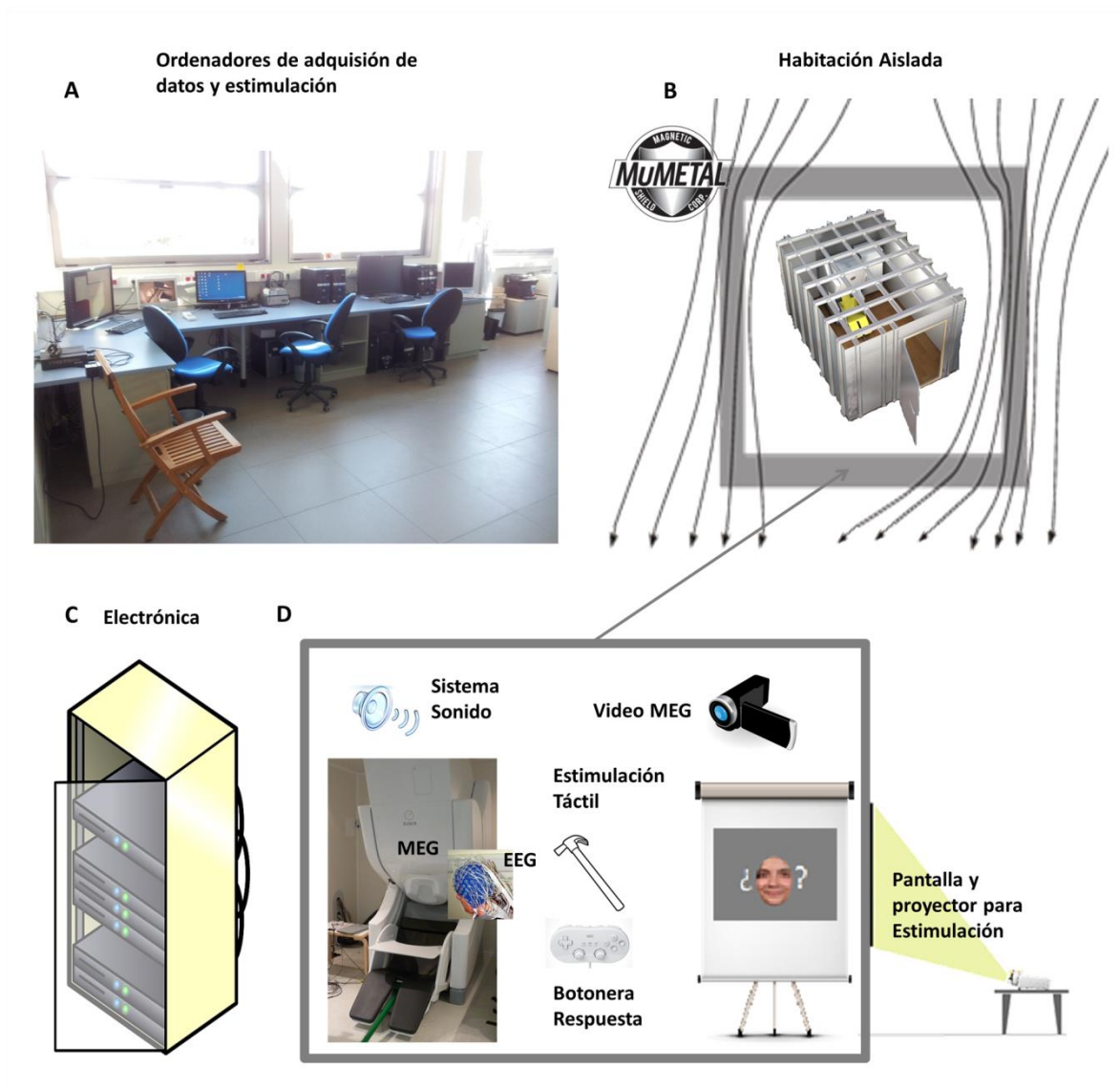


Figura 1.6. Esquema de un laboratorio de magnetoencefalografía.

Como ya se ha descrito, para obtener un campo con magnitud suficiente para ser detectado fuera del cráneo es necesario que al menos unas 10^5 neuronas agrupadas en un radio de 4 cm alrededor de cualquiera de los sensores MEG disparen de manera síncrona generando una corriente con una intensidad de 10 nA. De esa forma el campo magnético asociado será de unos 100 fT, detectable por los sensores MEG.

Para llevar a cabo esta tarea, el sistema MEG necesita de las propiedades de los superconductores y para ello ha de trabajar a temperaturas cercanas al cero absoluto, donde el helio se encuentra en su fase líquida. Básicamente está compuesto por tres partes (Figura 1.7): los Superconducting Quantum Interference Devices (SQUIDS), en castellano Dispositivos superconductores de interferencia cuántica, inventados por B. D.

Josephson en 1962, que se encargan de detectar los ínfimos campos magnéticos cerebrales, las bobinas de detección, o transformadores de flujo, que se encargan de captar y amplificar el campo magnético cerebral, y el vaso Dewar relleno de He líquido.

Vaso Dewar

Tanto los transformadores de flujo como los SQUIDS han de ser superconductores y esto únicamente es hoy día posible mediante su inmersión en helio líquido, de forma que su temperatura sea 4.2K. Para ello es necesario un contenedor, el vaso Dewar, capaz de albergar en su seno los sistemas de detección sumergidos en helio. Ha de cumplir varias condiciones: 1) ha de estar construido con materiales no magnético; 2) su ruido magnético ha de ser inferior al de los sensores; 3) dado que el helio se va perdiendo por evaporación, el tamaño del Dewar ha de ser suficiente como para garantizar una cierta autonomía entre rellenos de helio, típicamente de alrededor de una semana; y 4) la distancia entre las bobinas de detección de los transformadores de flujo (Figura 1.7, B) y la cabeza del sujeto ha de ser la mínima posible. En general son contruidos con una combinación de diferentes capas de fibra de vidrio y PET (*polietileno tereftalato*).

Transformadores de flujo

En la práctica, los SQUIDS no se emplean de forma que midan directamente el campo magnético debido a que para minimizar el ruido es necesario que la inductancia del SQUID sea baja. Además es útil emplear un sistema intermediario, los transformadores de flujo, para poder variar la sensibilidad espacial sin tener que modificar el diseño de los SQUIDS. Los transformadores de flujo (Figura 1.7, B) son unos dispositivos compuestos por dos bobinas superconductoras de diferente tamaño que se encargan de captar el campo magnético cerebral y proyectarlo amplificado en los SQUIDS. La bobina de detección es unas 100 veces mayor que la bobina acoplada al SQUID y puede tener diferentes configuraciones (Figura 1.7, D). La más sencilla es una bobina simple que actúa como un magnetómetro y por tanto sensible al campo magnético que incide perpendicularmente a su área. Mediante la combinación de dos magnetómetros puede construirse el segundo tipo posible de sistema de detección, los gradiómetros. Consisten en dos bobinas alineadas en un plano y con sentido de enrollamiento opuesto de forma que el campo detectado por el dispositivo es la resta del medido por cada una de las bobinas (Figura 1.7, D). De esta manera las fuentes lejanas, al tener una variación espacial suave, serán muy atenuadas.

La bobina de detección ha de situarse lo más cerca posible de la cabeza para maximizar la captación del campo biomagnético. En el transformador de flujo no hay resistencia ya que ambas bobinas son superconductoras y en consecuencia la intensidad circulante es proporcional al campo magnético externo. Si $\sqrt{S_{\phi}(f)}$ es la sensibilidad de flujo magnético

y $\sqrt{S_\Phi(f)}$ es la sensibilidad de campo magnético del SQUID, la relación entre ellas es mediada a través del área efectiva de la bobina de detección como sigue⁶⁹:

$$\sqrt{S_B(f)} \approx \frac{\sqrt{S_\Phi(f)}}{A_{eff}} \quad [1.9]$$

En la actualidad, los SQUIDS tienen una sensibilidad $\sqrt{S_\Phi(f)} \leq 1 \cdot 10^{-6} \Phi_0 \text{Hz}^{-1/2}$ y la sensibilidad de campo magnético necesaria para estudiar el neuromagnetismo es $\sqrt{S_B(f)} \approx 5 \text{ fT} \cdot \text{Hz}^{-1/2}$ en la región de ruido blanco y $\sqrt{S_B(f)} \approx 20 \text{ fT} \cdot \text{Hz}^{-1/2}$ para 1 Hz. Así pues, la bobina de detección ha de ser suficientemente grande como para cumplir con la condición expresada por [1.9], al mismo tiempo que optimiza la resolución espacial en los dispositivos con muchos sensores. Otro de los factores importantes es la eficiencia del acoplamiento entre el SQUID y la bobina correspondiente (Figura 1.7, B). Si el flujo acoplado a la bobina de detección es Φ_p , I_{in} la corriente circulante por el transformador de flujo y M es la inductancia mutua entre el SQUID y la bobina acoplada, entonces el flujo acoplado al SQUID, Φ_s , es⁶⁹:

$$\Phi_s = M I_{in} = \frac{M \Phi_p}{L_p + L_{in}} \rightarrow \frac{\Phi_s}{\Phi_p} = \frac{M}{L_p + L_{in}} \quad [10]$$

donde L_p y L_{in} son los coeficientes de autoinducción de las bobinas de detección y de la acoplada al SQUID respectivamente. Por tanto para maximizar el ratio entre ambos flujos, y habiendo fijado los parámetros del SQUID, se ha de elegir $L_p = L_{in}$, ya que si no la transferencia de energía entre el transformador de flujo y el SQUID no sería óptima. Sin embargo la transferencia de energía en función del ratio L_p/L_{in} es tal que una variación entre ambas autoinductancias de, por ejemplo, un factor cuatro causa únicamente una reducción de un 20% en la sensibilidad del campo magnético detectado⁷⁵.

En el caso del sistema de MEG Elekta Neuromag (Figura 1.6 y Figura 1.7), existente en el [Centro de Tecnología Biomédica](#) (CTB) se dispone de 102 sensores cuadrados de 20 mm de lado en los que coexisten tres transformadores de flujo: un magnetómetro y dos gradiómetros planares orientados en las dos direcciones del plano tangente (Figura 1.7, D).

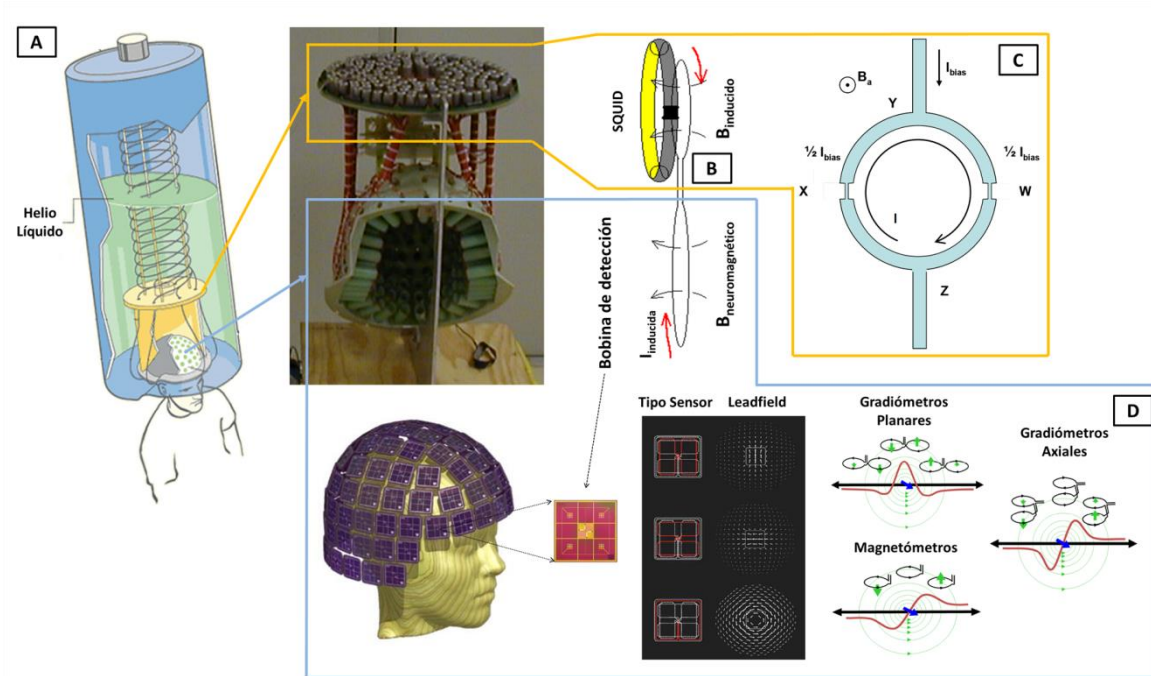


Figura 1.7. Descripción de los componentes principales de un sistema de magnetoencefalografía. **A.** Esquema del interior del vaso Dewar. El cuadro amarillo describe la localización **B**, y constitución de los SQUIDS **C**. El cuadro azul muestra la localización de los transformadores de flujo **B**, y las bobinas de detección **D**).

SQUIDS

El SQUID está compuesto por un anillo de material superconductor debilitado con uno o dos (son las empleadas en equipos MEG) estrangulamientos no superconductores. El funcionamiento estriba en base a tres propiedades de los materiales superconductores:

- i) El flujo magnético que atraviesa un anillo de material superconductor está cuantificado y se expresa de la siguiente forma:

$$\phi = n\phi_0 \text{ con } \phi_0 = \frac{h}{2e} = 2.07 \cdot 10^{-15} \text{ T} \cdot \text{m}^2 \quad [1.11]$$

donde h la constante de Planck, ϕ_0 el cuanto de flujo magnético (fluxón) y e el valor absoluto de la carga del electrón.

- ii) Las uniones Josephson rompen la continuidad del material dando lugar a un efecto túnel que mantiene las propiedades superconductoras mientras la corriente que pasa a su través no exceda un valor crítico i_c . La corriente en cada una de las uniones cumple:

$$I = i_c \sin(\Phi_B - \Phi_A) = i_c \sin(\Delta\Phi) \quad [1.12]$$

en donde Φ_A y Φ_B son las fases de la función de onda de los electrones superconductores a cada lado de la unión.

- iii) Si la corriente varía a través de la unión entonces la diferencia de fase también lo hará apareciendo en consecuencia un voltaje:

$$2eV = h \frac{d}{dt} (\Delta\Phi) \quad [1.13]$$

Al someter el anillo (Figura 1.7, C) a un \vec{B} perpendicular se aprecia una diferencia de fase a los largo de los recorridos XYW y WZX dada por:

$$[(\Delta\phi)_{XY}]_B = \frac{4\pi e}{h} \int_X^Y \vec{A} \cdot d\vec{l} \quad [1.14]$$

cuya solución es:

$$\Delta\phi(B) = 2\pi \frac{\Phi_a}{\Phi_0} \quad [1.15]$$

donde Φ_a es el flujo producido por \vec{B} . El surgimiento de la corriente inducida introduce un cambio de fase dado por:

$$2\Delta\phi(i) \quad [1.16]$$

y como ha de cumplirse la regla de cuantificación del flujo la expresión para el cambio total viene dada por:

$$\Delta\phi(B) \pm 2\Delta\phi(i) = 2\pi n \quad [1.17]$$

Mediante [1.12] y [1.15] se puede determinar el valor de la intensidad circulante:

$$|i^-| = i_c \sin\left(2\pi \frac{\Phi_a}{\Phi_0}\right) \quad [1.18]$$

Así pues, al incrementar el flujo desde 0 hasta $\frac{1}{2}\Phi_a$, la $|i^-|$ varía desde 0 hasta su máximo (i_c). Cuando se supere el valor $\frac{1}{2}\Phi_a$ entrará en acción la corriente i^+ hasta que ese valor retorne a cero. Con ello se aprecia la dependencia periódica que existe entre la corriente y \vec{B} , siendo su periodo de variación Φ_0 . Es la detección de estas corrientes lo que permite observar y medir los minúsculos campos magnéticos.

Desde un punto de vista cualitativo, y siempre descrito respecto del modelo representado en (Figura 1.7, C, el funcionamiento se basa en que una corriente inyectada en Y se bifurca equitativamente por ambas ramas. Si la intensidad $I_{bias} < i_c$ no habrá voltaje entre los terminales YZ mientras que si $I_{bias} > i_c$ aparecerá un voltaje. Así pues cuando un flujo magnético externo atraviesa el anillo (cuya inducción es L) aparecerá una corriente

inducida $I = -\phi_e / L$, que modulará las corrientes ya existentes de manera que aparecerán cambios de voltaje asociados a cambios en el flujo magnético externo.

Cancelación de ruido

La cancelación de ruido en MEG es un aspecto fundamental. Las señales cerebrales oscilan en el rango $1\text{ fT} \leq \text{señal} \leq 100\text{ pT}$, lo que implica que son ocho órdenes de magnitud menores que, por ejemplo, el campo magnético de La Tierra. En la (Figura 1.8) se muestra un gráfico con algunos de los componentes de dicho ruido en cuanto a la detección de campos magnéticos cerebrales se refiere:

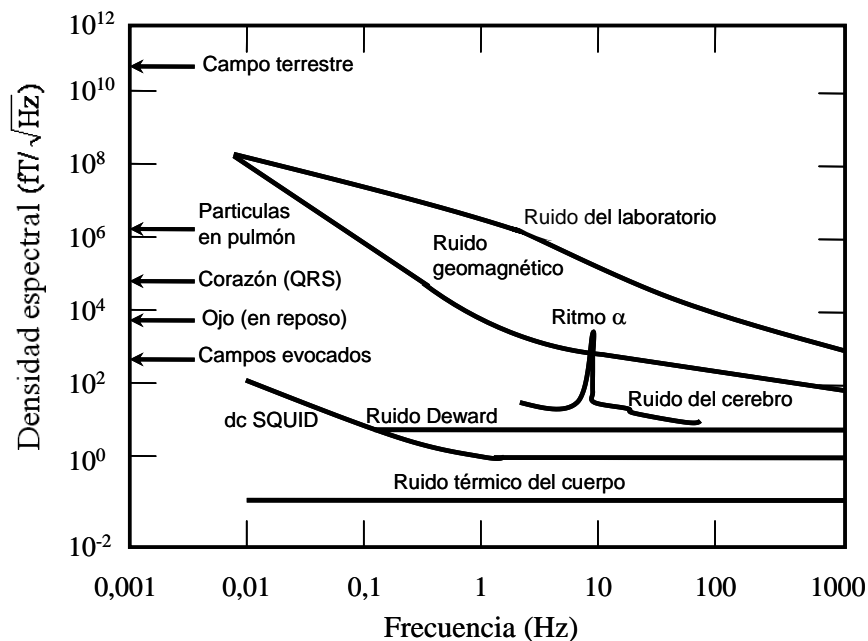


Figura 1.8. Distribución espectral del 'ruido' magnético, comparado con valores típicos de campo en MEG (campos evocados y ritmo α). Modificada de⁶⁶

El primer dispositivo para la reducción de ruido es la cámara de apantallamiento, o también llamada habitación aislada (Figura 1.6, D). Son recintos en los que está situado el sistema MEG y cuyas paredes están compuestas por diferentes capas de materiales con una alta permeabilidad magnética en comparación con la del interior de la habitación. De esta forma, se favorece la conducción del campo magnético a través de las paredes evitando que alcance al sistema MEG. Para ello se emplean fundamentalmente capas de aluminio y de un material compuesto por una aleación de Ni denominado μ -metal, cuya permeabilidad relativa está en torno a 80000. Gracias a ello se consiguen atenuaciones que oscilan entre los 90-130dB a 1 Hz⁶⁹.

El segundo nivel consiste en un procesamiento offline de las señales registradas mediante la aplicación del filtrado SSS (signal space separation)⁷⁶. Este método separa la información registrada por el conjunto de sensores MEG en un conjunto de armónicos esféricos con dos posibles orígenes: el interior del casco MEG o el exterior de éste (Figura 2.1, B). El algoritmo reconstruye un número configurable de fuentes internas y externas al casco (en el caso del sistema MEG empleado en esta tesis 80 y 15, respectivamente) y elimina la contribución de las fuentes externas, consiguiendo de forma efectiva una eliminación del ruido externo al casco, y por tanto a la cabeza del sujeto. Por último, la información de las fuentes identificadas en el interior del casco se transfiere de nuevo al conjunto de sensores, obteniendo una estimación de la señal adquirida como si no hubiera existido el ruido. Además, existe una extensión espacio-temporal del algoritmo, tSSS (temporo-spatial SSS⁷⁷), que elimina aquellas fuentes localizadas temporalmente en el interior del casco pero correladas (índices de correlación por encima de 0.9) con señales reconocidas como ruidosas. Esta variación del algoritmo calcula una separación en armónicos esféricos diferente para cada ventana temporal de 10 segundos, por lo que es posible emplear una reconstrucción de la información en sensores a partir de las fuentes diferente para cada ventana. Combinando esta posibilidad, con el registro continuo de la posición de la cabeza, es posible reconstruir la actividad que sería registrada en un conjunto de sensores virtuales cuya posición es constante respecto a la cabeza del sujeto, lo cual se traduce en una corrección de los movimientos de éste. Este algoritmo es el que se ha empleado en todos los trabajos que componen esta tesis doctoral. Un último apunte es que aunque para los trabajos detallados en esta tesis se han empleado únicamente los magnetómetros del sistema MEG, la información registrada por los gradiómetros también está presente indirectamente a través de la aplicación del filtrado tsss ya que éste emplea la información de todos los sensores para conseguir su propósito.

Resonancia Magnética Nuclear

La resonancia magnética nuclear (MRI) (Figura 1.9, A) es una técnica de neuroimagen no invasiva basada en la existencia del espín nuclear, particularmente de átomos de hidrógeno cuyos núcleos están compuestos de un único protón, para la obtención de diversos tipos de imágenes (Figura 1.9, C, D).

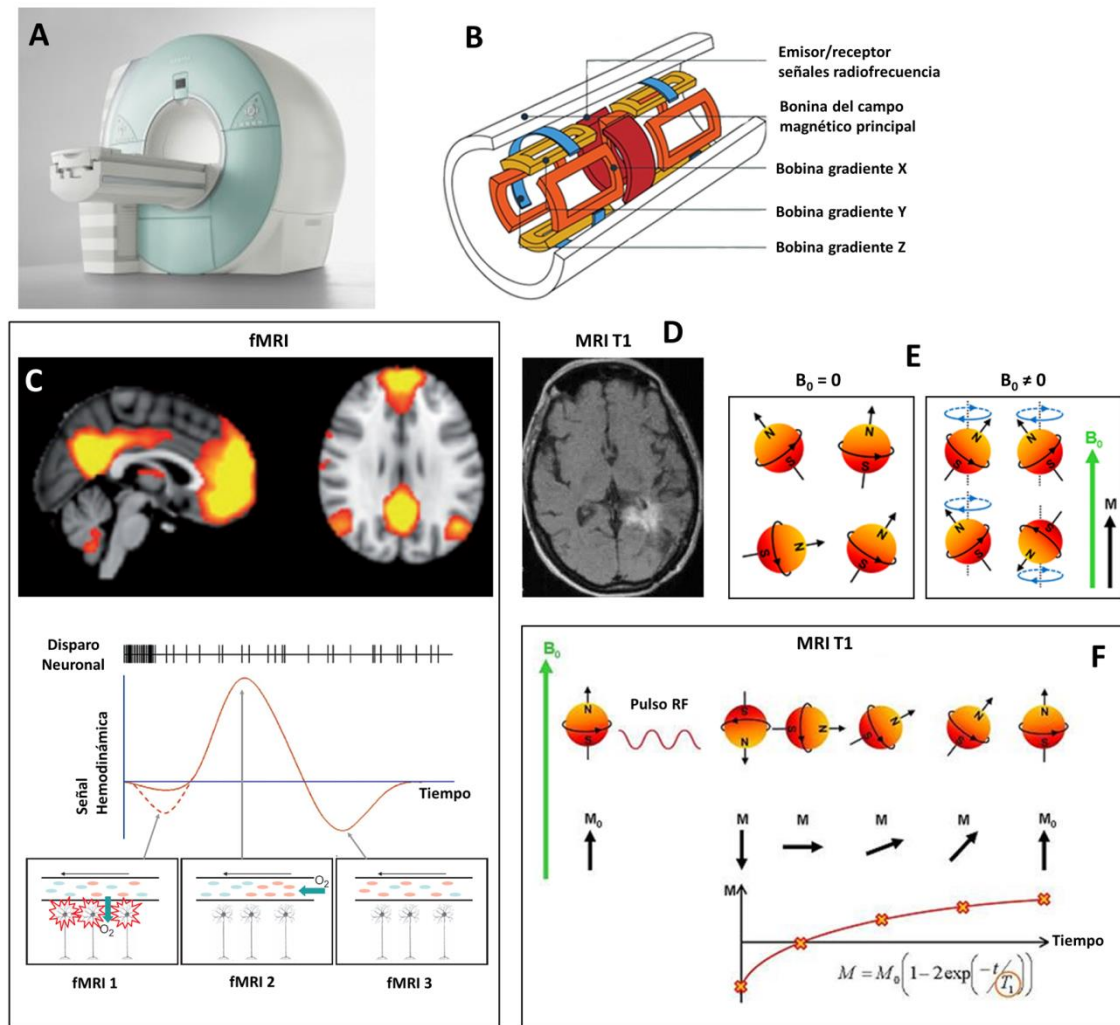


Figura 1.9. Descripción de un sistema de resonancia magnética nuclear (MRI). **A.** Sistema de resonancia magnética nuclear (MRI). **B.** Esquema de los componentes principales de un sistema MRI. **C.** Representación de los ROIs involucrados en la DMN y modelización de la respuesta hemodinámica (BOLD). **D.** Imagen T1 en la que se observa un oligodendroglioma (mismo caso que el expuesto en la Figura 1.10, D). **E.** Estado de los átomos de hidrógeno en ausencia y en presencia un de campo magnético externo B_0 . **F.** Modelización del origen de la señal T1. Figura modificada de⁷⁸.

En ausencia de un campo magnético externo (B_0), los núcleos estarán orientados aleatoriamente (Figura 1.9, E). Al aplicar un campo magnético, que en los sistemas de MRI actuales tiene un valor de entre 1.5 y 7 T, los protones tratarán de orientarse en la dirección del campo, apareciendo a nivel macroscópico un momento magnético total (M) no nulo. La proporción entre núcleos en el estado paralelo y los demás está regida por la ley de Boltzman que para un átomo de hidrógeno, un campo de 1.5T y a temperatura ambiente establece en 1 por cada millón el número de átomos orientados paralelamente. Esto se debe a que la energía térmica es mucho mayor que la diferencia de energía entre ambos estados, pero aun así dicha proporción es suficiente para ser medida debido a la enorme cantidad de núcleos disponible, incluso en un volumen muy pequeño. Para que un

núcleo cambie de estado deberá absorber una cantidad de energía $\Delta E = h\nu$, donde $\nu = \gamma B_0$ es la denominada frecuencia de Larmor. En MRI la frecuencia de Larmor está en torno a los 50 MHz, en el rango de las radiofrecuencias. Así que son éstas las que se utilizan para perturbar el sistema y poder realizar las medidas de interés. Esto se lleva a cabo con unas bobinas de radiofrecuencia que actúan a la vez como antenas transmisoras y receptoras (Figura 1.9, B). Al aplicar un pulso de radiofrecuencia (Figura 1.9, F) el vector de magnetización se aleja de la dirección de B_0 con un movimiento en espiral (precesión más nutación). Y al cesar el pulso el sistema vuelve al equilibrio emitiendo la energía sobrante nuevamente en forma de ondas de radiofrecuencia. La magnetización se puede descomponer en longitudinal (componente paralela a B_0) y transversal (componente sobre el plano xy) así que en el proceso de vuelta al equilibrio cada una invertirá un tiempo determinado. Estos tiempos son denominados T1 y T2 respectivamente. Ahora bien, dado que la frecuencia de resonancia depende del campo magnético B_0 , si se consigue que éste varíe en cada punto del espacio, podremos tener una frecuencia diferente para cada localización y de esa manera saber el número de núcleos que hay en ella. Esto se consigue con el uso de tres bobinas, una para cada dirección espacial, que introducen un gradiente en el campo magnético principal.

La resonancia magnética funcional (fMRI) se basa en que la desoxihemoglobina es más paramagnética que la oxihemoglobina. Es decir, se comporta como un imán microscópico. La fMRI registra las variaciones en la concentración de desoxihemoglobina local. El proceso neurofisiológico registrado por la señal BOLD se esquematiza en (Figura 1.9, C). Primero una activación neuronal conlleva un decremento local de la concentración de sangre oxigenada y el consiguiente aumento de la cantidad de sangre desoxigenada. Segundo, se produce una elevación considerable del nivel de sangre oxigenada como consecuencia de la demanda generada en el paso anterior y de la disminución de la utilización de sangre oxigenada debido al cese de la actividad neuronal. Finalmente, y tras un proceso de normalización de los flujos de sangre oxigenada y desoxigenada, se llega a un efecto post-estímulo debido a la lenta recuperación del volumen sanguíneo.

Tomografía por emisión de positrones.

La tomografía por emisión de positrones (PET) (Figura 1.10, A) es una técnica de medicina nuclear (emplea radioisótopos β^+ de vida media corta) capaz de crear imágenes mediante la medida de la concentración de diversas sustancias en el cuerpo humano (Figura 1.10, C y D). Para estudiar una sustancia dada, como por ejemplo la glucosa o la proteína beta-amiloide, se ha de crear un radiotrazador que posea una afinidad con la misma, de manera que al introducirlo en el cuerpo humano el radiotrazador se comporte como la sustancia objetivo. Como el sistema PET es capaz de detectar dónde se ha iniciado el proceso radiactivo desencadenado por el radiotrazador, aquellas zonas con mayor señal

PET serán aquellas con mayor concentración de la sustancia objetivo. El radiotrazador puede introducirse mediante una inyección al torrente sanguíneo o a través de la inhalación de un gas que contiene la molécula radiactiva. Su utilización entraña un riesgo bajo para la salud del paciente debido a que desaparece del cuerpo en cuestión de minutos.

El radiotrazador consiste en una molécula inestable debido a ser deficitario en neutrones. Como consecuencia de ello, uno de sus protones decae generándose un neutrón, un positrón y un neutrino (Figura 1.10, B). Mientras que el neutrón se mantiene en el núcleo, el positrón es expelido perdiendo su energía cinética progresivamente. Tras recorrer unos pocos milímetros se ve atraído por la carga negativa de los electrones del medio y se produce la aniquilación de ambas partículas (Figura 1.10, B). Dicha aniquilación genera dos fotones de alta energía (511KeV) que salen despedidos a la velocidad de la luz en direcciones exactamente opuestas. Esto es en teoría, porque en la realidad existen procesos de dispersión, especialmente por efecto Compton, que pueden desviar la trayectoria de los fotones. El sistema PET consiste en un anillo compuesto de un conjunto de pares de detectores. Los detectores de cada par están situados de manera opuesta en el anillo, para que así puedan detectar adecuadamente ambos fotones. Una desintegración ocurre cuando ambos detectores de un mismo par reciben el impacto de un fotón de manera simultánea, lo que implica que la diferencia temporal entre ambas detecciones no exceda de un valor 2τ , donde τ oscila entre 8 y 12 nanosegundos. Y además los fotones han de llegar con una diferencia de energías máxima para certificar que las posibles dispersiones sufridas por cada fotón han sido lo más similares posible.

En neurociencia se usan diversos radiotrazadores en función de las sustancias objetivo. El más empleado es el ^{18}F -FDG (Fluor-Desoxi-Glucosa), un compuesto que se comporta como la glucosa. El FDG se incorpora a la célula en proporción a su demanda de glucosa pero al no poder ser metabolizada, sufre un "atrapamiento metabólico" gracias al cual se obtienen las imágenes. La incorporación de FDG puede cuantificarse mediante el valor de captación estándar o SUV ("standard uptake value"), que relaciona el número de detecciones en una región determinada comparado con la dosis administrada. Es la base del biomarcador de hipometabolismo de la enfermedad de Alzheimer y está considerado como un indicativo del proceso neurodegenerativo. El otro compuesto de interés es el ^{11}C -PiB (C-Pittsburgh Compound B) que posee una alta afinidad con los agregados fibrilares de la proteína beta. Fue desarrollado en 2004⁷⁹ y es ampliamente utilizado en el diagnóstico de la enfermedad de Alzheimer debido a que la amiloidosis es uno de los marcadores considerados neuropatológicos de la enfermedad (junto con la formación de los ovillos neurofibrilares de tau). Actualmente se están desarrollando numerosas investigaciones con el objetivo de encontrar radiotrazadores para la formación de ovillos

neurofibrilares de tau y se prevé que en 2015 empiecen a realizarse los primeros registros tau-PET⁸⁰.

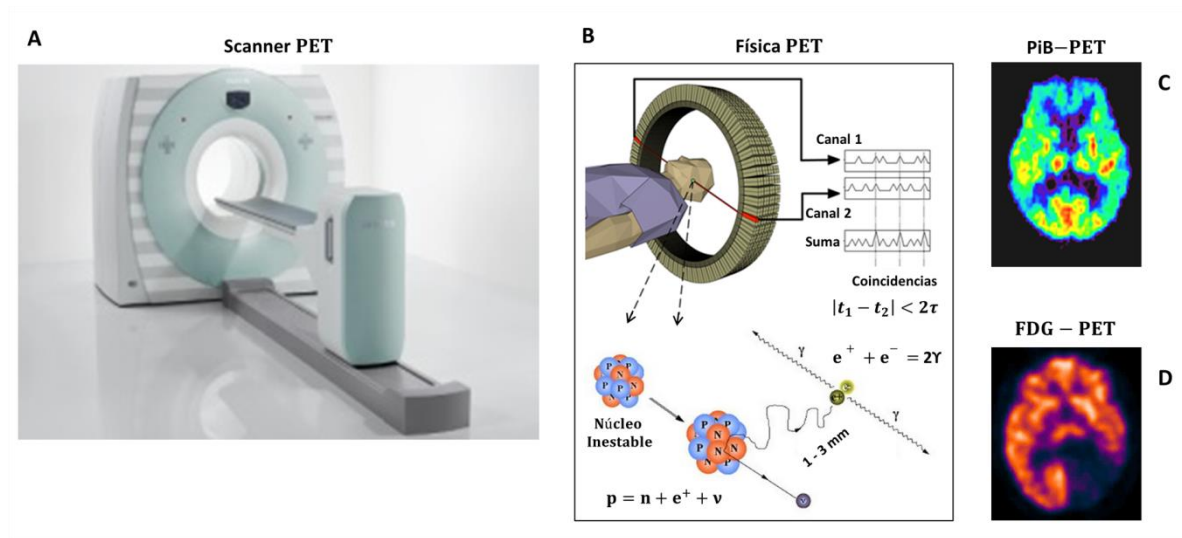


Figura 1.10. Tomografía por emisión de positrones. **A**, sistema de tomografía por emisión de positrones (PET). **C**, Imagen de la concentración de beta-amiloide realizada con PiB-PET. **D**, Imagen de metabolismo realizada con FDG-PET en la que se observa el efecto de un oligodendroglioma (la localización del mismo puede observarse en la imagen correspondiente de la Figura 1.9, D).

Comparativa de las diferentes técnicas de neuroimagen

En la (Figura 1.11) se muestra una comparativa de las resoluciones temporales y espaciales de diversas técnicas de neuroimagen haciendo hincapié además en el grado de invasibilidad. Como se puede observar, la MEG ofrece un balance muy equilibrado entre ambas resoluciones y con la menor invasividad de todas las técnicas actuales. Respecto a las demás técnicas de neuroimagen, la MEG es junto con el EEG la única técnica no invasiva que es capaz de medir en tiempo real y de forma directa la actividad cerebral. El motivo por el que la MEG posee una resolución espacial mucho más alta que el EEG es debido a que el campo magnético no sufre distorsión al atravesar las diferentes capas del encéfalo mientras que el campo eléctrico sí se ve afectado.

La MRI posee una resolución espacial extraordinaria pero la medida que realiza de la actividad cerebral es indirecta (flujo sanguíneo) y con una resolución temporal de unos pocos segundos.

EL PET es una técnica de neuroimagen tremendamente invasiva (necesita de un radiotrazador) pero que en determinadas ocasiones ofrece una perspectiva muy específica y por consiguiente útil.

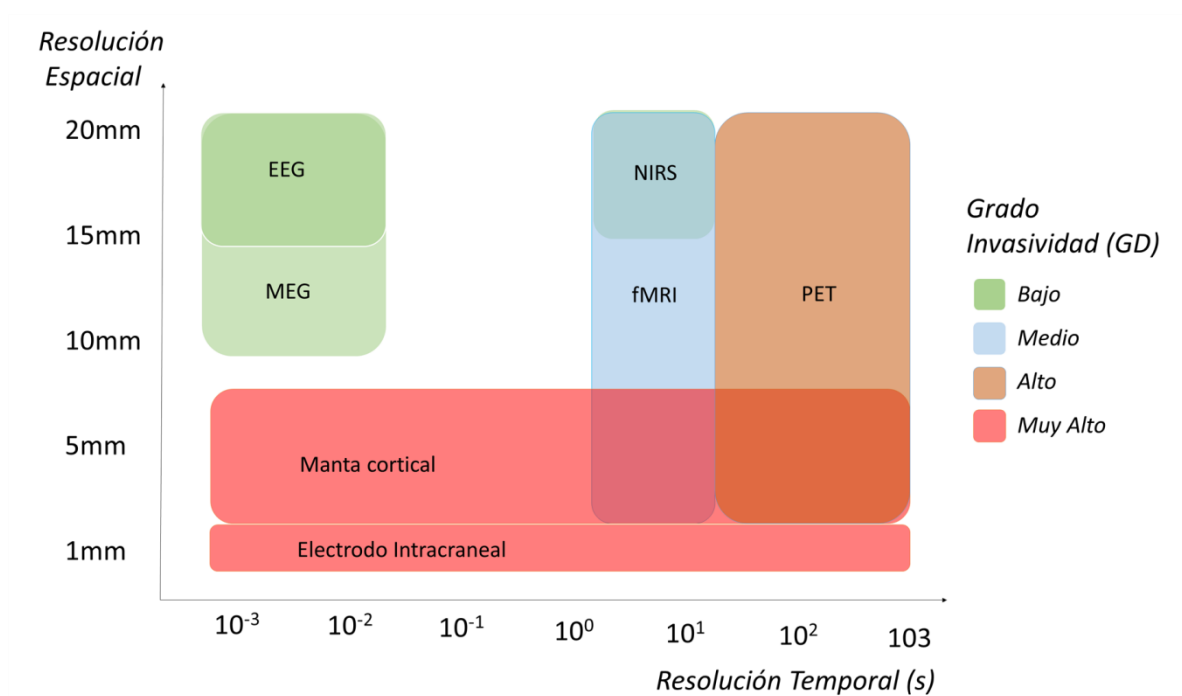


Figura 1.11. Esquema comparativo de las resoluciones de las distintas técnicas existentes en neurociencia. Las abreviaturas se refieren a: EEG - Electroencefalografía; MEG - Magnetoencefalografía; PET - Tomografía por Emisión de Positrones; fMRI - Resonancia Magnética Funcional; NIRS - Tomografía Óptica mediante Infrarrojos. Modificada de⁷⁸.

1.1.3 Macroescala: Neuropsicología

La neuropsicología surge como disciplina científica a mediados del siglo XX con la finalidad de estudiar y entender los déficits conductuales originados por algún tipo de lesión cerebral. Sus inicios, durante el siglo XIX, están relacionados con neurólogos como Paul Broca (1824-1880) y Karl Wernicke (1848-1905), que estudiaron a pacientes con lesiones cerebrales que parecían ocasionar un daño en el lenguaje. También con el psicofisiólogo Flechner (1801-1887), interesado en la relación entre la magnitud de un estímulo y su percepción.

Pero no sería hasta el siglo XX en el que el psicólogo y médico ruso Alexander Romanovich Luria (1902-1977), considerado padre de la neuropsicología, perfeccionó las técnicas para estudiar el comportamiento de personas con lesiones neuronales y completó una batería de pruebas psicológicas diseñadas para establecer las afecciones en los procesos cognitivos.

Funciones Cognitivas

Las funciones cognitivas conforman un amplio grupo de capacidades y habilidades que incluyen la atención, la memoria, el lenguaje y las funciones ejecutivas.

Atención

Se define como la capacidad de generar, dirigir y mantener un estado de activación cognitiva adecuado para el procesamiento correcto de la información. Se pueden distinguir los siguientes tipos:

- Atención sostenida: mantenimiento del foco de atención en una tarea durante un largo periodo de tiempo (capacidad requerida, por ejemplo, en un controlador aéreo).
- Atención selectiva: focalización de la atención y concentración en una tarea sin permitir que otros estímulos, externos o internos, interfieran en nuestro cometido (e. g., comprender lo que se está leyendo a pesar de que haya gente hablando alrededor).
- Atención alternante: cambio del foco de atención de una tarea a otra que requieran una demanda cognitiva diferente (e.g., un proceso consistente en leer un texto, hablar con alguien y volver a la lectura de manera efectiva).
- Atención dividida: capacidad para atender dos tareas al mismo tiempo, distribuir los recursos atencionales a dos acciones distintas (e. g., se requiere al conducir, principalmente en conductores noveles que aún no han automatizado todos los procedimientos).

Memoria

Definida como la capacidad para codificar, almacenar y recuperar de manera efectiva información aprendida o un suceso vivido. Se pueden distinguir distintos tipos en función de su contenido:

- Memoria episódica: información sobre experiencias vividas ubicadas en el espacio/tiempo (e. g., recordar el día de una boda).
- Memoria semántica: conocimientos de carácter general (e. g., recordar que el agua hierve a 100°).
- Memoria procedimental: secuencia de actos motores aprendidos, de los cuales la mayoría se realizan de manera automática (e. g., saber andar en bicicleta).

En función de la consciencia de procesamiento:

- Memoria explícita: aquella en la que se es consciente de los conocimientos almacenados (i. e., la memoria declarativa).
- Memoria implícita: su aprendizaje ha sido no consciente por lo tanto sus recuerdos no requieren de una recuperación “intencional” (e. g., información subliminal en *marketing*). Este tipo de memoria ha sido estudiada en muchos trastornos, como en pacientes amnésicos, ya que se ve conservada a pesar de fallarles la memoria explícita).

En función del tiempo de mantenimiento:

- Memoria a largo plazo: almacena recuerdos por un tiempo que puede prolongarse desde un día hasta décadas, sin que se le presuponga límite de capacidad o duración (i. e., memoria episódica).
- Memoria a corto plazo: mantenimiento en la mente de una limitada cantidad de información, de forma que se encuentre disponible en un corto periodo de tiempo. Comúnmente se estima que su duración es de segundos y que su capacidad de 7 ± 2 elementos (e. g., retener un número de teléfono desde que es escuchado hasta que lo marcas).
- Memoria de trabajo/operativa: está relacionada con las funciones ejecutivas que se describen más adelante. Es la capacidad de mantener y manipular la información (e. g., oír un número de teléfono con las cifras al revés con lo que para poder usarlo será necesario invertir las cifras mientras se mantiene en la memoria el teléfono).

Lenguaje

Se define como la capacidad para elaborar, comunicar y entender ideas mediante sonidos, símbolos y/o gestos. Existen distintos componentes dentro del lenguaje.

- Expresión: capacidad de formular ideas con sentido y de manera gramaticalmente correcta.
- Comprensión: capacidad de entender el significado de las palabras e ideas subyacentes a ellas.
- Vocabulario: conocimiento del léxico
- Denominación: capacidad de nombrar objetos.
- Fluidez verbal: capacidad de producir de manera rápida y eficaz contenidos lingüísticos.
- Repetición: Capacidad para reproducir los mismos sonidos que se escuchan.
- Escritura: transformación de las ideas en símbolos, caracteres e/o imágenes.
- Lectura: interpretación de esos símbolos, caracteres e/o imágenes y transformarlos en habla.

Funciones ejecutivas

Son llevadas a cabo principalmente por los lóbulos frontales, y definen a un conjunto de habilidades que permiten la anticipación y el establecimiento de metas, la formación de planes, la iniciativa, la autorregulación de las tareas y su habilidad para llevarlas a cabo eficientemente. Las funciones cognitivas son procesos interdependientes que en conjunto forman un complejo sistema dinámico. Las principales son:

- Planificación: capacidad de generar objetivos, desarrollar planes de acción para conseguirlos y elegir el más adecuado en base a la anticipación de consecuencias.

- Razonamiento abstracto: capacidad de comparar resultados, elaborar inferencias y establecer relaciones abstractas.
- Flexibilidad: capacidad de generar nuevas estrategias para adaptar la conducta a los cambios de demanda del ambiente.
- Inhibición: capacidad de ignorar los impulsos o la información relevante tanto interna como externa cuando realizamos una tarea
- Toma de decisiones: decidir tras sopesar distintas opciones y sus posibles resultados y consecuencias.

Test neuropsicológicos

El proceso diagnóstico suele iniciarse con la sospecha de la ocurrencia de un deterioro cognitivo, ya sea por parte del propio paciente o por algún familiar.

La exploración neuropsicológica mediante test baremados permite detectar posibles casos de demencia, ayuda al diagnóstico diferencial y a determinar subtipos de demencia. Los test pueden evaluar la función cognitiva de una forma global o bien por dominios cognitivos y dado que las pruebas son cuantitativas pueden determinar el grado y evolución del deterioro.

En los estudios contenidos en esta tesis se han empleado los siguientes test neuropsicológicos:

- *Mini Examen del Estado Mental (Mini-mental state examination, MMSE)*: es una prueba muy sencilla que combina distintos procesos cognitivos para detectar el posible deterioro cognitivo en personas mayores⁸¹.
- *Test de denominación Boston (Boston Naming Test)*: evalúa la capacidad denominativa del paciente mediante la confrontación de imágenes⁸².
- *Test de fluidez verbal (FAS)*: se evalúa la capacidad verbal del sujeto tanto con una clave fonética (palabras que empiecen con una letra determinada) como con una clave semántica (palabras de una categoría semántica, e.g., animales o ropa); así como funciones ejecutivas y estrategias en su fluidez⁸³.
- *Test de percepción visual de objetos en el espacio (Visual Object Space Perception Test, VOSP)*: es una prueba perceptiva en el que el sujeto tiene que identificar objetos mediante imágenes con perspectivas no habituales. La reconstrucción de la imagen requiere también del empleo de funciones ejecutivas⁸⁴.
- *Dígitos directos (Escala inteligencia de Wechsler para adultos, WAIS)*: es una prueba de memoria a corto plazo. Calcula el *spam* de memoria, es decir, la cantidad de ítems que se es capaz de mantener en la memoria a corto plazo⁸⁵.
- *Dígitos inversos (Escala inteligencia de Wechsler para adultos, WAIS)*: es una prueba de memoria operativa, porque el sujeto no solo tiene que mantener en la

memoria unos ítems, sino que también tiene que manipularlos, invirtiendo su orden⁸⁵.

- *Unidades inmediatas (Immediate Recall Test)*: prueba de memoria a corto plazo en que el material es una historia⁸⁵.
- *Unidades demoradas (Delayed Recall Test)*: prueba de memoria a largo plazo en el que al sujeto, al cabo de un tiempo, se le pide que vuelva a repetir la misma historia⁸⁵.
- *Trail Making Test (TMT)*: es una prueba con dos partes, la primera evalúa atención sostenida (A) y en la segunda (B) atención alternante⁸⁶.

Además se han empleado una serie de baterías neuropsicológicas para el establecimiento del diagnóstico y la evaluación de los criterios de exclusión:

- *Escala de Deterioro Global (GDS)*⁸⁷.
- Escala de depresión geriátrica de Yesavage⁸⁸.
- Escala de evaluación de la EA (ADAS)⁸⁹.

1.2 Demencia y Enfermedad de Alzheimer

Demencias es el nombre que reciben las enfermedades neurodegenerativas que ocasionan un deterioro cognitivo tal que limita la independencia de las personas en sus actividades cotidianas⁹⁰. Son enfermedades que se desarrollan lentamente (decenios en el caso de la EA) y que una vez diagnosticadas conllevan un largo proceso degenerativo hasta acabar con la muerte del paciente (en torno a 7 años en la EA). Su prevalencia aumenta con la edad, pasando de un 2% en las personas de 65 a 69 años a un 25% en las personas de edades comprendidas entre los 85 y los 89 años⁹¹. Debido principalmente al incremento de la esperanza de vida pero también a la transformación demográfica que acontece en los países desarrollados el número de personas a nivel mundial afectadas por demencia está previsto que pase de los 35.6 millones en 2010 a los 115.4 millones en 2050. El problema es mayor cuando se considera el daño que esta enfermedad causa no sólo en las personas que la padecen sino también en sus familiares y cuidadores y el elevado coste que genera en los sistemas sanitarios estatales, por ejemplo, el coste de las demencias en la Unión Europea y EEUU se ha estimado en 422.000 millones de dólares en 2010, cifra que duplica holgadamente el coste asociado al cáncer⁹². Los cuatro subtipos de demencia más comunes son la EA, la demencia vascular (VaD), La demencia de cuerpos de Lewy (DLB) y la demencia frontotemporal (FTLD). En torno a un 60-80% de los casos de demencia se corresponden con la EA ya sea de forma pura o combinada con otros subtipos, especialmente con la VaD⁹³. Es por ello que la EA se haya bajo el foco de un enorme esfuerzo a nivel mundial para comprender y paliar en la medida de lo posible sus devastadores efectos. Por ejemplo, se estima que consiguiendo retrasar en un año el inicio de la EA, se reduciría en un 10% el número de casos de EA en 2050¹.

Sin embargo, la EA es una enfermedad multifactorial y establecer un diagnóstico preciso es complicado ya que muchos de los efectos comúnmente asociados a la EA son compartidos con otras demencias, o incluso con el envejecimiento natural. Por ello, es fundamental describir en la medida de lo posible que ocurre cuando envejecemos libres de demencia.

1.2.1 Envejecimiento no Patológico

En primer lugar se ha de entender el envejecimiento natural no patológico como aquel proceso gradual de deterioro físico e intelectual asociado a la edad que transcurre sin una merma cognitiva incapacitante. Es decir, el punto de inflexión que marca el paso de un proceso natural a uno patológico es el nivel del deterioro cognitivo, que a su vez se basa en si es o no limitante en las actividades de la vida diaria del paciente. Las pruebas neuropatológicas, obtenidas en gran medida con técnicas de neuroimagen, ofrecen fundamentalmente dos clases de información en función de si se llevan a cabo en ausencia o no de síntomas de deterioro cognitivo. Cuando se llevan a cabo en pacientes

con daño cognitivo aportan una información imprescindible para diagnosticar la enfermedad en curso (e. g. si es EA o DLB). Si las pruebas se realizan en etapas asintomáticas pueden ayudar a establecer qué personas poseen un mayor riesgo de desarrollar esas enfermedades en el futuro porque se sabe que los procesos neuropatológicos comienzan muchos años antes de la aparición de los síntomas cognitivos⁴. A continuación se describen los cambios cognitivos, neurobiológicos y neurodinámicos considerados *normales* en el envejecimiento, entendiendo por *normales* aquellos que ocurren en ausencia de una pérdida cognitiva limitante de la independencia en las actividades de la vida diaria.

Cambios cognitivos “normales” asociados a la edad

Como ya se ha dicho, detectar un daño cognitivo es el primer paso hacia el diagnóstico de la Demencia. Pero para ello primero es necesario comprender que un cierto declive cognitivo es inherente al propio proceso de envejecimiento. La diferencia estriba en el grado en que ese declive incapacita para llevar una vida corriente de forma independiente. En general el declive asociado a la edad no lo hace hasta edades muy avanzadas donde, además, a ese declive cognitivo se le suma un deterioro físico. Brevemente, con la edad algunas funciones cognitivas, todas ellas consideradas de alto nivel, muestran un cierto declive⁹⁴. Entre estas se encuentran la memoria episódica, la memoria de trabajo y la atención. Además, la capacidad de realizar varias tareas al mismo tiempo, la velocidad de procesamiento y la capacidad para evitar perder la concentración suelen ser menores conforme se van cumpliendo años. Pero también hay otras funciones cognitivas como la memoria semántica o procesos como la regulación emocional que no se ven afectados por el paso del tiempo. Una característica relevante en investigación es la variabilidad inter-sujeto que existe en la ejecución cognitiva. Esta variabilidad (por ejemplo cuantificada como la desviación estándar de los tiempos de reacción en una tarea determinada de un grupo de personas) es mayor en grupos de edad avanzada que en grupos con personas más jóvenes (Figura 1.12, A). Esta variable da idea de la heterogeneidad en la composición de un grupo en cuanto a la ejecución de algún proceso cognitivo y es utilizada como un marcador de deterioro cognitivo⁹⁵.

Por último, es importante mencionar que existen determinados factores “de riesgo” que afectan decisivamente tanto al declive asociado a la edad como al ocasionado por la EA. Estos factores son piezas clave en los procesos que acontecen en todos los niveles del estudio del cerebro (cognitivo, biológico y dinámico). Se desarrollarán en el punto 1.2.2 pero resumidamente tratan de cuantificar cómo de “en forma” estamos a nivel físico e intelectual y cuál es la carga genética de cada uno. Son en gran medida los causantes de la enorme heterogeneidad que existe en la forma en que cada cual envejece. Por ejemplo, un estudio reciente⁹⁶ en el que se estudia el declive de la memoria episódica con la edad

se muestra que existen tres tipos de personas. Aquellos que mantienen sus niveles de memoria en el tiempo (un 18% del total de 1500 personas), aquellos que sufren de un deterioro “normal” de la misma (68%) y los que sufren un deterioro muy acentuado (13%). Pero la conclusión más interesante del estudio es que los factores que otorgan mayor probabilidad de pertenecer al primer grupo son la actividad física, ser mujer y vivir acompañado mientras que los que otorgan menor probabilidad es tener una baja educación, estar desempleado y ser un hombre. En definitiva, y obviando meterse en diferencias de sexo, parece que estar activo tanto física como intelectualmente en nuestra vida diaria es la mejor manera de envejecer sanos.

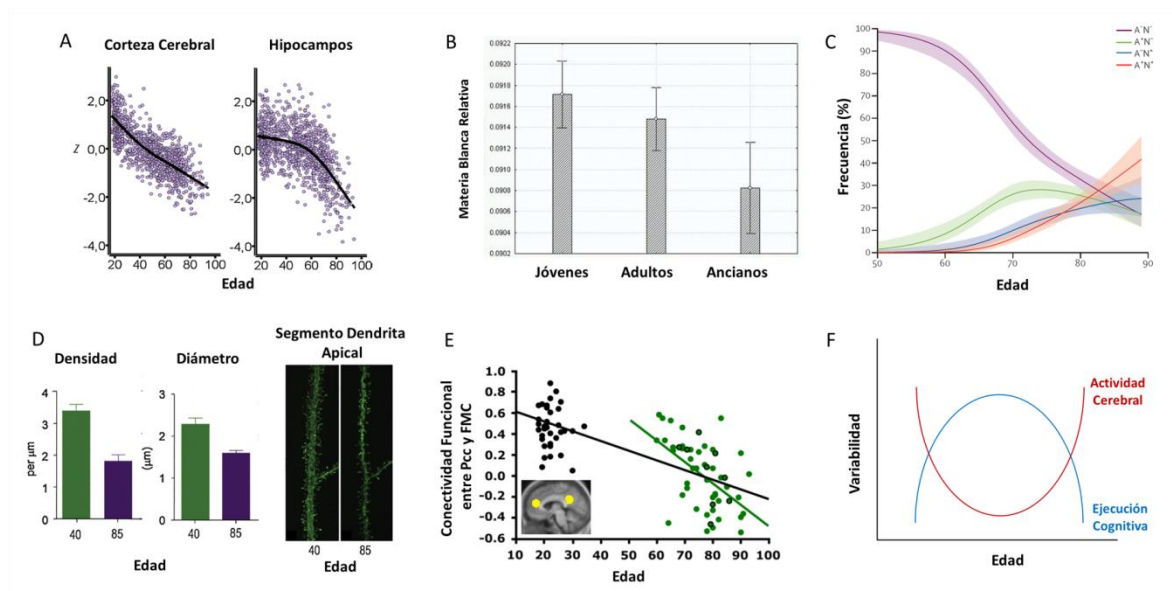


Figura 1.12. **A.** Trayectorias de la reducción de volumen (en z-scores) de la corteza cerebral e hipocampal en función de la edad. Modificada de⁹⁷. **B.** Diferencias en materia blanca relativa en función de la edad. Modificada de⁹⁸. **C.** Frecuencia estimada (porcentaje) de población en cada grupo en función de la edad. Modificada de⁹. **D.** Análisis de la integridad y densidad de las espinas dendríticas en dos muestras pertenecientes a pacientes con distinta edad. Modificada de^{99,100}. **E.** Conectividad funcional entre la corteza cingulada posterior y el córtex frontal en función de la edad en jóvenes (línea y puntos negros) y en ancianos (línea y puntos verdes). Modificada de¹⁰¹. **F.** Representación del comportamiento inverso que se da entre la variabilidad inter-sujeto en la ejecución cognitiva y la de la actividad cerebral. Modificada de⁹⁵.

Cambios neurobiológicos “normales” asociados a la edad

El proceso neurobiológico más descrito en la literatura en cuanto a su relación con la edad es la atrofia cerebral. Este proceso ha sido comúnmente circunscrito a las regiones frontales pero hoy día se considera que afecta a la mayor parte del cerebro y en especial a las regiones temporales^{102,103}. Como se puede observar en (Figura 1.12, A) el volumen cortical decrece de forma prácticamente lineal con la edad pero el volumen hipocampal lo hace a partir de los 60 años¹⁰⁴, lo que encaja a la perfección con el declive de memoria episódica que empieza entorno a los 65 años¹⁰⁵. El decremento anual del volumen

cerebral oscila en un 0.2-0.5% anual, el hipocampal disminuye su volumen un 0.8-2% anual y la corteza entorrinal un 0.3-2.4%^{106,107}. Además parece haber diferencias^{108,109} en los patrones de atrofia asociados con el envejecimiento (regiones frontales y cuerpo estriado) y a la EA (regiones mediales temporales y parietales). Respecto a las medidas de espesor cortical existe un amplio consenso sobre su relación inversa con la edad, llegando a encontrar correlaciones de hasta $-.70$ ¹¹⁰. En el caso de la materia blanca (Figura 1.12, B) también se ha descrito una relación directa entre su atrofia y la edad¹¹¹, además de haberse encontrado una correlación entre la integridad del cuerpo calloso y el deterioro de memoria¹¹². En cuanto al metabolismo, también se ha encontrado una reducción del metabolismo (medido con FDG-PET) con la edad en la corteza cingulada anterior¹¹³. Este hecho es relevante dado que precisamente el hipermetabolismo en la corteza cingulada anterior está relacionado con la reserva cognitiva¹¹⁴.

Por último queda describir qué papel juegan en el envejecimiento sano la acumulación de A β y tau, los dos marcadores neuropatológicos de la EA. De ambos biomarcadores el más estudiado (gracias al desarrollo del PiB-PET) es A β . Se ha demostrado una relación directa entre actividad sináptica y la acumulación de A β ^{23,115}, asentando la idea de que es un proceso que afecta a las áreas de mayor actividad como la DMN¹¹⁶. Consecuentemente, parece sensato pensar que en cierta medida este proceso debería estar presente en el envejecimiento y de hecho, así es. Un estudio de neuroimagen reciente⁹, ha analizado la incidencia de neurodegeneración (medida como atrofia cerebral o hypometabolismo cerebral y denotada como N+ o N- en función de si se tiene o no) y de amiloidosis (denotada como N+ o N-) en función de la edad en sujetos sin deterioro cognitivo (Figura 1.12, C). Algunos resultados de ese trabajo son: 1) a la edad de 50 años el 100% de los sujetos son N-A- pero solo un 17% permanece indemne a la edad de 89 años; 2) de igual modo no hay pacientes A+N+ a los 50 años pero el porcentaje aumenta hasta un 34% a los 89 años; 3) el porcentaje de población A+N- permanece relativamente constante (20-28%) entre los 65 y los 89 años; 4) con el aumento de la edad aumenta la proporción de sujetos con A-N+. Así pues existe una cierta tendencia a acumular amiloide conforme avanza la edad¹¹⁷ y de hecho parece que existe una cierta sinergia entre la acumulación de amiloide y la neurodegeneración pues un 60% de los A+ son N+ en contraposición al 32% que son N-¹¹⁸. Aunque la relación entre A β y la atrofia cortical en sujetos cognitivamente sanos sólo ha sido hallada en aquellos con una alta concentración de amiloide^{119,120}, e incluso en ellos no se encuentra relación entre A β y atrofia hipocampal. La relación entre la acumulación de A β y el rendimiento cognitivo en sujetos sanos es a lo sumo débil. Por ejemplo la relación con la memoria episódica es .12, con las funciones ejecutivas .08 y .09 con el estado cognitivo global¹²¹. En cambio, existe una cierta relación longitudinal entre A β y la memoria episódica cuando se tienen en cuenta únicamente los sujetos con un nivel inicial alto de acumulación de amiloide⁴. En cuanto a la relación con tau se ha

encontrado que la acumulación de amiloide no está relacionada con la acumulación de tau en el hipocampo, que es donde primero se acumula¹²². El modelo más actualizado de evolución de biomarcadores³ hipotetiza que la acumulación de tau en el hipocampo es el primer marcador de la EA¹²³ aunque por sí mismo no desencadena la enfermedad. Es la acumulación de A β la que al alcanzar niveles anormales interacciona con tau¹²⁴ y desencadena el proceso neurodegenerativo de la EA. De hecho, el papel de tau tanto en el envejecimiento como en la EA aún está por ser analizado en detalle, ya que los radio-trazadores para poder realizar estudios de neuroimagen aún están en la última fase de desarrollo¹²⁵. La progresión estereoscópica de tau encaja mejor que la de A β con los patrones de atrofia observados en AD (con el rol central del hipocampo), y por ejemplo, la cantidad total de tau en el LCR correlaciona mejor con la edad que A β . Sin embargo, la cantidad de ptau en el LCR, el mejor biomarcador de EA, no correlaciona con la atrofia¹⁰⁰ que como ya se ha visto correlaciona muy bien con la edad. Por otra parte, y siguiendo en el nivel molecular, también se han encontrado relaciones entre la síntesis y eficiencia de ciertos neurotransmisores con la edad. Por ejemplo, tanto la dopamina¹²⁶ como la serotonina¹²⁷ se ven afectados por la edad.

Por último, es necesario hacer hincapié en la importancia de los factores de riesgo. Por ejemplo se ha demostrado que una mayor reserva cognitiva otorga un cierto carácter protector ante la EA¹²⁸ e incluso una cierta resistencia ante el declive asociado con altas concentraciones de A β ¹²⁹.

Cambios en la actividad cerebral “normales” asociados a la edad

El estudio de los cambios en la actividad cerebral relacionados con la edad es difícil debido a la heterogeneidad de paradigmas en estudios, de las poblaciones y del gran número de factores que pueden estar afectando en cada caso. Por ejemplo es bien conocido que el sistema vascular se degrada en el envejecimiento¹³⁰ pero no lo es el grado en que esto afecta a la señal hemodinámica registrada con fMRI. Sin embargo más allá de las dificultades insoslayables en este tipo de estudios parece haber cierto consenso en cuanto a la interpretación de los resultados obtenidos. Grosso modo, parece que existe un cierto decremento de la actividad cerebral (Figura 1.12, E) tanto en reposo^{131,132}, como durante la ejecución de algunas tareas cognitivas¹³³, reflejando el declive cognitivo también asociado a la edad. Esta disminución se evidencia también en el comportamiento de la actividad electrofisiológica donde se observa un paulatino enlentecimiento de los ritmos electrofisiológicos conforme avanza la edad. Este enlentecimiento consiste en una disminución de la amplitud del ritmo alfa (8-12Hz) acompañado de un incremento de la amplitud en frecuencias bajas (2-8Hz). Este fenómeno podría estar explicado por una pérdida de integridad de las vías colinérgicas que afectan especialmente a las bandas de frecuencia alta y están afectadas por el envejecimiento y la EA^{134,135}. Además existe una

variación en la topografía de las fuentes de baja frecuencia que se van extendiendo desde zonas posteriores a zonas anteriores⁵⁵.

Por otra parte, hay numerosos estudios que describen un incremento de la actividad cerebral con la edad durante la ejecución de diversos paradigmas cognitivos¹³⁶. La justificación más extendida para estos aumentos de actividad es la existencia de un mecanismo de *compensación*, por el cual se reclutan más áreas cerebrales (también aumentando la bilateralidad) y de una forma más intensa (mayor activación) para mantener el rendimiento cognitivo. Existen otras posibles explicaciones, como una pérdida de eficiencia¹³⁷, o a una dificultad extra a la hora de seleccionar los recursos necesarios para responder a una demanda cognitiva, paradigma conocido como *dediferenciación*^{138,139}. Este último paradigma es muy empleado hoy día debido a su importancia en los estudios de conectividad funcional pues los patrones de actividad cerebral en los ancianos suelen involucrar más áreas y ser más difusos que en jóvenes, es decir es más difícil “diferenciar” los patrones de actividad cerebral ante diferentes demandas cognitivas en los ancianos. Por ejemplo, mientras que en jóvenes la memoria implícita parece estar controlada por el cuerpo estriado y la explícita por el hipocampo, en ancianos ambas regiones están presentes en ambos tipos de memoria¹⁴⁰. Otra característica interesante es la variabilidad que existe en los patrones de actividad cerebral de los sujetos (Figura 1.12, F). Mientras que la variabilidad en la ejecución cognitiva es mayor en la infancia y en la vejez, la variabilidad en los patrones de actividad cerebral se comporta justo de forma opuesta^{141,142}.

Una última variable a tener en cuenta es la plasticidad neuronal que parece disminuir con el paso del tiempo¹⁴³. Se entiende ésta en neurociencia como la capacidad que tienen las células del sistema nervioso para adaptarse de manera estructural y funcional ante un entorno dinámico. Los vehículos principales para llevarse a cabo comprenden la neurogénesis (en los seres humanos adultos aún ocurre en el hipocampo y el bulbo olfatorio), y la modulación sináptica (creación y eliminación de sinapsis así como su fortalecimiento o debilitamiento) en la que juegan un papel clave las espinas dendríticas. Estas pequeñas protuberancias membranosas de las dendritas son elementos altamente dinámicos (pueden cambiar de forma, de volumen o incluso multiplicarse en cuestión de minutos) y constituyen las principales entradas postsinápticas de las sinapsis excitatorias en el cerebro humano¹⁴⁴. Esto es relevante dado que existe cierta evidencia (Figura 1.12, D) de que tanto su número como su integridad estructural disminuyen con la edad¹⁴⁵.

En resumen, se puede afirmar que el envejecimiento es un proceso complejo que conlleva una serie de cambios a todas las escalas cerebrales: cognición, biológica y dinámica. Sin embargo existe una enorme heterogeneidad en la manera en que este proceso afecta a

cada persona pues existen numerosos factores que otorgan cierta vulnerabilidad o cierta resistencia ante el avance de los años. El estudio de esos factores “de riesgo” es una de las claves para paliar no sólo los efectos del envejecimiento sino también de la EA pues en ambos casos interferirán decisivamente con el deterioro correspondiente a cada proceso.

1.2.2 Factores de Riesgo

Edad

La edad es el mayor factor de riesgo para desarrollar EA. Como ya se ha descrito al inicio del capítulo la prevalencia pasa de un 2% en personas con edad en torno a 67 años a un 25% para aquellas con edades en torno a los 87 años.

Enfermedad de Alzheimer hereditaria

En torno a un 1% de los casos, la EA se desarrolla antes de los 65 años, en ocasiones a los 30 años. Las personas que padecen esta variedad de la EA han heredado una mutación en alguno de los siguientes genes: APP (proteína precursora del amiloide), Presen1 y 2 (presenilina).

Historial Familiar

Aquellas personas con parientes de primer grado que han padecido EA poseen un mayor riesgo de desarrollar la enfermedad¹⁴⁶. Las causas de esto no están claras debido a la posible influencia de vivir en unas condiciones ambientales similares o a heredar el alelo $\epsilon 4$ del gen ApoE.

Alelo APOE- $\epsilon 4$

La apolipoproteína E (APOE) es la principal lipoproteína del cerebro. Tiene tres isoformas: apoE2, apoE3 y apoE4, codificadas respectivamente por tres alelos (APOE- $\epsilon 2$, APOE- $\epsilon 3$ y APOE- $\epsilon 4$) del gen ApoE. De ellos el más relevante para la EA es el alelo APOE- $\epsilon 4$ que está considerado el mayor factor de riesgo genético de la EA^{11,12}. Un 41.1% y un 14.8% de los enfermos de EA poseen respectivamente una y dos copias del alelo APOE- $\epsilon 4$, cifras que contrastan con las obtenidas en la población libre de EA: 21.3% y 1.8% respectivamente¹⁴. En la (Figura 1.13, centro) se muestran las prevalencias para todos los genotipos en función de la raza. Poseer 1 o 2 copias del alelo APOE- $\epsilon 4$ incrementa la posibilidad de desarrollar EA (Figura 1.13, izquierda) en un factor 3 o 12 respectivamente y además ocasiona que la enfermedad comience 10 o 20 años antes cuando se compara con sujetos con dos copias del APOE- $\epsilon 3$ ¹⁴. Además como se puede observar en la (Figura 1.13, izquierda) los efectos perniciosos de ser portador de este alelo son considerablemente mayores en las mujeres. La apolipoproteína E se acumula en las placas de A β y en los ovillos neurofibrilares de tau¹⁰ y estas acumulaciones aparecen más en sujetos con genotipo 34 o 44 que en sujetos con genotipos libres de APOE- $\epsilon 4$ ¹⁴⁷⁻¹⁵¹. Pero las características

neuropatológicas del alelo APOE- ϵ 4 no se restringen únicamente a la acumulación de A β y tau (Figura 1.13, derecha), sino que también afecta a la integridad del citoesqueleto, a la hiperfosforilación de tau, al funcionamiento mitocondrial, a la sinaptogénesis o a la respuesta inflamatoria^{13,152}.

Tener APOE- ϵ 4 afecta en general aumentando tanto la probabilidad de desarrollar los síntomas de la EA, llegando a influir en la probabilidad de desarrollar EA¹⁵, como el grado en que estos se manifiestan¹⁵³⁻¹⁵⁶. Afecta al declive asociado con la edad de la memoria episódica^{157,158}, aumenta el grado de atrofia tanto en materia gris como en blanca^{159,160} o aumenta el nivel de hipometabolismo^{161,162}. En ancianos sanos¹⁶³, ha mostrado una disminución de la FC en las regiones posteriores de la DMN y un incremento en las regiones parieto-frontales de la SN. Este decremento en la DMN ha sido descrito incluso en sujetos sin amiloidosis¹⁶⁴ y relacionado específicamente con la edad¹⁶⁵. Además se ha relacionado ser portador del alelo APOE- ϵ 4 con una hiperactivación en el hipocampo en tareas de memoria^{166,167} que han sido interpretadas como un mecanismo compensatorio. Interesantemente, este mismo comportamiento se ha encontrado en ancianos sanos con amiloidosis¹⁶⁸ y ha sido establecido como un mecanismo reactivo ante un daño neurológico¹⁶⁹. Recientemente¹⁷⁰, ha descrito que los controles portadores del alelo APOE- ϵ 4 muestran una distribución de la actividad en alfa distinta consistente en un decremento de la potencia frontal. Por otra parte, en poblaciones con pacientes con EA,^{171,172} se ha descrito que los pacientes con EA y portadores del alelo APOE- ϵ 4 muestran una disminución de la FC, resultado también encontrado en personas con DCL³⁵. En DCL se ha encontrado que un 52% de los pacientes con DCL tipo amnésico poseen al menos un alelo APOE- ϵ 4¹⁷³ y además, en esta misma población se ha descrito un mayor declive cognitivo¹⁷⁴⁻¹⁷⁶, una mayor acumulación de A β y de tau¹⁷⁷, y una mayor probabilidad de desarrollar evolucionar a EA^{15,178-180}. En neuroimagen electrofisiológica, varios estudios^{171,181,182}, han descrito un “enlentecimiento extra” en los portadores del alelo APOE- ϵ 4 consistente en un decremento de la potencia en bandas de frecuencia alta (alfa y beta) y un decremento en las bandas de frecuencias bajas (theta).

En la (Figura 1.13, derecha) se muestran las asociaciones de la isoforma apoE4 con numerosas alteraciones cerebrales tales como atrofia, hipometabolismo, amiloidosis o la capacidad de regeneración neuronal en sujetos sin daño cognitivo.

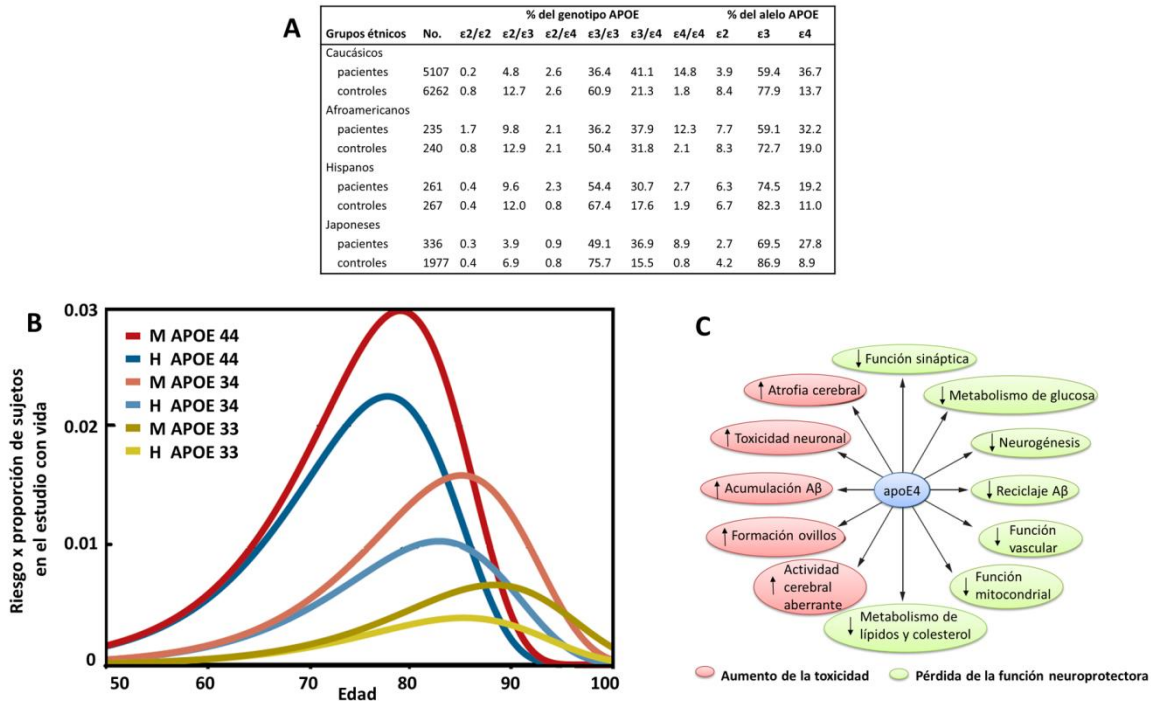


Figura 1.13. **A**, distribución de los genotipos y alelos del ApoE en controles y sujetos con Alzheimer para diferentes razas. Figura modificada de¹⁴. **B**, Riesgo de desarrollar Alzheimer en portadores de dos, uno o ningún alelo $\epsilon 4$ del gen ApoE en mujeres (M) y hombres (H). Figura modificada de¹⁸³. **C**, Rol del alelo APOE- $\epsilon 4$ en la neuropatología de la EA, que puede ser a través del incremento de ella o mediante la disminución de los mecanismos neuroprotectores. Figura modificada de¹⁸⁴.

Quejas Subjetivas de Memoria

Las quejas subjetivas de memoria (QSM) es el nombre dado a la etapa caracterizada por la aparición de los primeros indicios de deterioro cognitivo, en general de la memoria¹⁸⁵ que se encuentra justo en la interfase entre el periodo en que el cerebro es capaz de solventar (compensar) las consecuencias del proceso neuropatológico subyacente y la aparición de un deterioro cognitivo diagnosticable neuropsicológicamente. La clase de fallos de memoria que conllevan a este diagnóstico no se refieren a pequeños olvidos sino a ser incapaz de recordar cómo hacer cosas que hemos hecho siempre o de olvidar conocimientos que siempre hemos sabido. Todo sin limitar la independencia en las actividades de la vida diaria. Este estadio es difícil de determinar debido a la enorme heterogeneidad existente en la población de edad avanzada pues entran en juego numerosos factores como la propia subjetividad de los fallos de memoria, otras enfermedades, medicación o la personalidad. Las personas con QSM poseen un mayor riesgo (4.5 veces) de acabar desarrollando la EA, además lo hacen una media de 4 años antes y con un deterioro cognitivo un 60% más rápido que los sujetos sin QSM¹⁸⁶. De hecho un estudio reciente equipara el riesgo de desarrollar EA en QSM con el de deterioro cognitivo leve¹⁸⁷.

Deterioro Cognitivo Leve

Deterioro cognitivo leve (DCL) es una condición en la cual el sujeto presenta un daño cognitivo leve o moderado (no impide las actividades de la vida diaria) que puede ser cuantificado mediante test neuropsicológicos^{188,189}. Entre la población de más de 65 años, la prevalencia de DCL ronda un 3-19%, y ha sido considerado uno de los grandes objetivos de estudio debido a que la tasa de conversión anual a EA en la población con DCL es de un 10-15%, llegando a ser de un 80% en 6 años¹⁸⁹. A nivel cognitivo, y a pesar de la heterogeneidad del déficit cognitivo que puede mostrar esta población, los test neuropsicológicos les sitúan de 1 a 1.5 desviaciones estándar por debajo de la media para su edad y nivel educativo. Aunque el deterioro en memoria episódica suele ser el más común en pacientes con DCL que progresan a EA, otros dominios cognitivos como las funciones ejecutivas, el lenguaje o la atención también pueden verse afectados⁶. Teniendo en cuenta los distintos tipos de deterioros se ha clasificado a los pacientes con DCL con dos ejes diferentes. El primero se basa en si se tiene o no afectada la memoria (DCL amnésico, “aDCL” o no amnésico “naDCL”) y el segundo se basa en el número de dominios cognitivos afectados (un único dominio “udDCL” o múltiples dominios “mdDCL”). De la combinación de estos dos ejes obtenemos la clasificación en los ocho tipos de DCL, importante porque cada subtipo presenta distinto pronóstico¹⁹⁰. Recientemente, con la aparición de los nuevos criterios diagnósticos y la irrupción de las nuevas técnicas de neuroimagen se ha profundizado en el diagnóstico del DCL separándolo en dos categorías en función de si se presenta o no la neuropatología asociada a la EA⁶. Los sujetos con DCL que presentan amiloidosis (en torno a un 60-70% de los casos para sujetos con una edad en torno a 70 años¹⁵¹) son considerados una etapa antecesora de la EA^{4,191}, y de hecho, se han encontrado divergencias notables en la evolución cognitiva de ambos subgrupos de DCL. Por ejemplo, en un estudio de cohorte¹⁹² en el que se ha realizado un seguimiento de los pacientes durante 36 meses, los DCL con acumulación de A β positiva mostraban una tasa de deterioro cognitivo (memoria visual y verbal) similar a la de los sujetos con AD, pero los DCL que no tenían acumulación de A β positiva no sufrían ningún tipo de deterioro.

Factores de riesgo cardiovasculares

Ya se ha comentado que en numerosas ocasiones la EA cursa acompañada de VaD. El sistema vascular que baña el cerebro es uno de los más complejos y densos del cuerpo humano y en general todo lo que le afecte a él le afectará de igual modo al cerebro. Factores como la obesidad¹⁹³, diabetes¹⁹⁴, colesterol¹⁹⁵, o hipertensión¹⁹⁶ constituyen factores de riesgo tanto vasculares como de la EA. De igual modo los factores que protegen al sistema vascular lo harán igualmente con el cerebro, por ejemplo la actividad física que ya es uno de los mejores predictores del declive cognitivo¹⁹⁷ o tener una dieta baja en grasa saturadas y rica en vegetales¹⁹⁸.

Traumatismos craneoencefálicos

Haber sufrido traumatismos craneoencefálicos moderados (con pérdida de consciencia o amnesia postraumática que dura al menos 30 minutos) o graves (la pérdida de consciencia y/o amnesia es de al menos 24 horas) eleva el riesgo de desarrollar demencia¹⁹⁹. Un traumatismo moderado incrementa el doble el riesgo de padecer demencia y en el caso de ser grave, el riesgo se multiplica por 4.5²⁰⁰. La principal fuente de traumatismos son los accidentes de tráfico aunque hoy día el tema suscita mucho interés debido a que existen varias poblaciones (exsoldados, deportistas) que están sometidos a traumatismos leves repetitivos y se ha mostrado que estos colectivos tienen un mayor riesgo de desarrollar algunos tipos de demencia como la encefalopatía traumática crónica que es sólo distinguible de la EA en una autopsia²⁰¹.

Reserva Cognitiva

La reserva cognitiva es un concepto que engloba numerosos factores que de alguna forma tratan de cuantificar el grado de “en forma” que está nuestro cerebro²⁰². Es un concepto muy relacionado con otros como la actividad física, por la subsiguiente mejora cardiovascular, o la reserva cerebral. Sin embargo mientras que éste último es referido más comúnmente a la integridad estructural del cerebro (reserva pasiva), el de reserva se enfoca más hacia la integridad funcional (reserva dinámica). Está enormemente en boga hoy día debido a su función neuroprotectora frente a los procesos neurodegenerativos, ya sean asociados a la edad o a enfermedades como la EA²⁰³. El concepto de reserva cognitiva explica dicha neuroprotección como un proceso mezcla de resiliencia y compensación ante una patología subyacente. Dentro de la reserva cognitiva se consideran factores como la educación, la clase de trabajo desempeñado o si se mantiene o no una vida social activa. En particular, para la educación, entendida como número de años de estudio, se ha demostrado que aquellos con educación más baja poseen mayor riesgo de desarrollar EA²⁰⁴ y de sufrir un deterioro cognitivo más acentuado¹⁹⁷. El mismo resultado se ha hallado para aquellos que poseen una vida social activa en contraposición a los que no²⁰⁵.

En resumen, entender la importancia de los factores de riesgo es hoy día uno de los principales objetivos en el esfuerzo global contra la EA. Un artículo reciente²⁰⁶, analiza el riesgo de desarrollar la EA debido a siete factores de riesgo (diabetes, hipertensión, obesidad, inactividad física, depresión, tabaquismo y baja educación) y establece que tomados en cuenta en conjunto se puede explicar un 30% de los casos de EA a nivel mundial. Esto implica que de reducir en un 10% por década la prevalencia de cada uno de estos siete factores se podría reducir la prevalencia de la EA en un 8.3% a nivel mundial. En particular este trabajo muestra que a nivel mundial una educación baja es el mayor factor de riesgo (19%) y cuando se miran los datos en EEUU o Europa el mayor factor se

corresponde con la inactividad física (21 y 20.3% respectivamente). Es un resultado muy similar al ya descrito anteriormente donde la actividad física era la mejor manera de evitar el declive cognitivo asociado a la edad¹⁹⁷.

1.2.3 Patología de la Enfermedad de Alzheimer

La EA ha sido históricamente descrita como un proceso en el que las personas olvidan, empezando por pequeñas cosas y acabando por perder completamente la noción de sí mismos. Pero este declive cognitivo emerge como consecuencia de un complejo proceso neuropatológico subyacente que se inicia mucho antes de que seamos capaces de advertir cualquier declive cognitivo (Figura 1.15). La neuropatología de la EA ha sido generalmente descrita como un binomio que comprende la formación de placas de A β en el exterior de las neuronas y de ovillos neurofibrilares (NFT) de tau en el interior de las mismas²⁰⁷. Sin embargo día a día este escenario se complica al introducir unirse nuevos actores como la microglía y su función inmunológica^{208,209}, la comorbilidad con patología vascular²¹⁰, la relación con disfunción mitocondrial²¹¹ y sin olvidar el enorme efecto que tienen en el desarrollo de la enfermedad los factores de riesgo como el perfil genético²¹², la reserva cognitiva²⁰², el estado físico¹⁹⁷, la calidad del sueño²¹³, la dieta, el tabaquismo, o la diabetes²¹⁴.

Cambios neurológicos

Según²¹⁵ la acumulación de amiloide detectable en el LCR empieza 25 años antes del diagnóstico de la EA. Para los demás biomarcadores y ordenados por orden de anticipación al diagnóstico las cifras son: incremento de A β medido con PiB-PET (15 años), incremento de tau en el LCR (15 años), reducción de volumen hipocampal (15 años), reducción del metabolismo cerebral (10 años), deterioro de memoria episódica (10 años) y deterioro de funciones cognitivas que no son memoria (5 años). En este modelo obtenido de una muestra con EA hereditaria se establece que tau es positivo 15 años antes mientras que A β ₄₂ lo es 25 años antes. Sin embargo la última versión del modelo de biomarcadores³, hipotetiza que tau comienza mucho antes aunque no sea detectable con las técnicas actuales. De hecho los actuales modelos de interacción entre A β y tau establecen que tau va acumulándose sin un perjuicio patológico aparente pero que cuando A β aparece en escena se desencadena la cascada de eventos neuropatológicos que terminan en la EA²¹⁶. En la (Figura 1.15, izquierda) se muestra una fotografía donde se pueden observar con claridad las placas amiloide y los ovillos neurofibrilares y en la (Figura 1.14) se muestra la progresión estereotípica de la acumulación anómala de A β y tau.

La acumulación de placas de A β es uno de los rasgos más conocidos de la EA. Sin embargo los motivos por los que ésta se produce o la forma en que afecta al funcionamiento del cerebro son aun motivo de discusión. Se sabe que la acumulación de A β se incrementa

con la actividad sináptica²¹⁷, y que existe una regulación bidireccional entre la actividad neuronal y la acumulación de A β ⁵⁰. Incluso se ha descrito una relación entre dicha acumulación y la actividad cerebral medida con conectividad funcional^{22,23}. Los mecanismos subyacentes a estas relaciones son motivo de estudio en la actualidad. Por un lado las placas de A β alteran las trayectorias de los axones y dendritas a su alrededor, además de cambiar las condiciones físico-químicas en su entorno, lo que lógicamente tendría consecuencias sobre las sinapsis²¹⁶. Por otro, parece que las placas afectan especialmente a las neuronas gabaérgicas²¹⁸, lo que al afectar a la inhibición sináptica⁴⁷ y con ello se contribuiría a la desestabilización de la actividad de la red cortical⁴⁶. Otra de las cuestiones a entender es si las acumulaciones de A β se deben a que se incrementa la cantidad de proteína o a que los mecanismos de su reciclaje no funcionan como deben. Parece que poco a poco va surgiendo más evidencia de que la amiloidosis es más debida a un problema de reciclaje que de sobregeneración de A β ^{219,220}, en contra de lo que ocurre en la EA familiar²²¹. Respecto a los mecanismos de limpieza, uno de los principales y más afectados es reciclaje de A β que se realiza durante las horas de sueño²²². Nuevos estudios apuntan a que los trastornos del sueño pueden ser uno de los primeros síntomas de la EA²²³. Por ejemplo, en un estudio reciente²²⁴ se muestra que los sujetos portadores del alelo APOE- ϵ 4 pueden ser divididos en dos grupos en función de la calidad de sus horas de sueño y se relata como los sujetos con sueño más fragmentado poseían más riesgo de desarrollar la EA. Otro factor a tener en cuenta es que, aunque las medidas de acumulación de A β tomadas del LCR o mediante PiB-PET dan una información similar, parece que la segunda es más fiel al proceso neuropatológico de la EA²²⁵. Además se ha comprobado en ratones que el A β extraído de tejido cerebral es capaz, al inyectarlo en otros ratones, de acelerar el proceso de amiloidosis, cosa que no ocurre cuando se inyecta el A β extraído del LCR²²⁶. Por último se ha mencionado la importancia de la relación entre la integridad del sistema vascular y la acumulación de A β , relación en la cual el alelo APOE- ϵ 4 es un actor fundamental^{151,227,228}.

El estudio y comprensión de los mecanismos por los que se produce la agregación de proteína tau formando ovillos neurofibrilares (NFT) en el interior de las neuronas y cómo estos ovillos afectan a la actividad neuronal es hoy día un objetivo prioritario, ya que los modelos más actualizados de biomarcadores³ sitúan a tau como el primer indicio de la EA. Tau es una proteína que se encuentra fundamentalmente en los axones y cuyas funciones más conocidas son la estabilización de los microtúbulos y la regulación del transporte axonal²²⁹, aunque también parece tener un rol en algunos mecanismos de membrana, específicamente en las dendritas²³⁰. Además, da nombre a una serie de enfermedades neurodegenerativas llamadas taupatías²³¹, entre las que se encuentra la EA o la encefalopatía traumática crónica que está en boga debido a que afecta a numerosos deportistas y exsoldados²³². El proceso mediante el cual tau se agrega en ovillos comienza

con su hiperfosforilación, lo que ocasiona que éste se disocie de los microtúbulos, provocando su desintegración. Al mismo tiempo el ovillo de tau interfiere con el funcionamiento neuronal provocando en último término la muerte de la neurona. Además la proteína tau hiperfosforilada soluble (no ligada en ovillos) es tóxica contribuyendo a una disfunción sináptica²³³, del transporte axonal²³⁴ y de la respiración mitocondrial²³⁵. Al igual que ocurre con A β , la concentración de tau aumenta con la actividad sináptica^{236,237} y cuando se encuentra agregado en ovillos su concentración correlaciona positivamente con el declive cognitivo²³⁸ y la muerte neuronal²³⁹. Actualmente los únicos estudios de tau in vivo posibles son los realizados con los marcadores extraídos del LCR: total tau y ptau. Ambos aparecen significativamente incrementados en los sujetos con DCL y EA²⁴⁰, y de ellos ptau parece ser más específico de la EA^{241,242}. Un estudio reciente²⁴³, ha analizado la precisión de estos biomarcadores para diagnosticar la EA y el mejor resultado es obtenido para el cociente entre total tau y A β ₄₂ con un valor de un 93%, seguido de ptau/A β ₄₂ con un 91% (los valores para total tau, ptau y A β ₄₂ fueron respectivamente 87%, 79% y 86%). El hecho de que a priori ptau no sea el que presente mejores cifras puede deberse a la fuerte influencia que tiene la edad en los procesos de acumulación de A β y tau^{244,245}, influencia que sería menor en el caso de ptau. Como último apunte, en 2014 se ha publicado la primera prueba tau-PET realizada con éxito¹²⁵. Teniendo en cuenta que la técnica para estudiar A β con neuroimagen (PiB-PET) fue hecha pública en 2004 y el elevado número de trabajos que se han realizado con ella es lógico pensar que los próximos 10 años serán los de tau, donde podremos hacer honor a la palabra neuroimagen ya que se estará usando un sistema PET para estudiar el interior de las neuronas.

Además de las acumulaciones de A β y tau ya descritas, la EA cursa con una acentuada atrofia cortical (Figura 1.14 y Figura 1.15) tanto de materia gris como de materia blanca¹⁰⁰. Especialmente relevante es la reducción de materia gris en el hipocampo que, aun siendo común tanto en la EA como en el envejecimiento sano, parece estar más relacionada con el proceso degenerativo de la EA que con el del envejecimiento sano, donde la atrofia afecta a regiones frontales^{246,247}. Relacionado con esto, se ha especulado con la posibilidad del uso de los patrones de atrofia para distinguir los sujetos que evolucionarán a DCL de los que se mantendrán estables. Por ejemplo, se ha descrito²⁴⁸ la existencia de un patrón de atrofia específica para los sujetos que evolucionan a la EA que incluye regiones y temporales y fronto-orbitales, siendo ésta última una de las regiones más relevantes en la acumulación de amiloide²⁴. No obstante, el patrón generalmente aceptado es aquel en el que la atrofia asociada a la EA da comienzo en la corteza entorrinal y se extiende por el hipocampo hacia regiones parietales y en última instancia a todo el córtex¹⁰⁰. Incluso en la etapa de DCL el ratio de atrofia es varias veces mayor que en el envejecimiento no patológico y el ratio continúa aumentando con el avance de la

enfermedad¹⁶. Además es bien conocida la existencia de una relación entre atrofia y amiloidosis en sujetos con DCL y AD^{249,250} pero no tanto en ancianos sanos donde sólo ha sido hallada para aquellos con mayor acumulación de amiloide^{4,251,252}. De una forma similar sólo han podido ser encontradas relaciones entre ptau y atrofia hipocampal en sujetos con DCL o AD. Una posible explicación para la débil relación entre amiloidosis y atrofia hipocampal, especialmente en ancianos sanos, es que posiblemente baste con un ligero incremento en la concentración de amiloide en las regiones mediales para que se desencadene el fallo en la región. Esto encaja con los resultados ofrecidos por²⁴ en los que se establece el inicio de la amiloidosis en regiones mediales y con los resultados de estudios en ratones^{253,254}, en los que se establece la existencia de un efecto pernicioso en la función sináptica en el hipocampo incluso con un incremento leve de A β . No obstante y a modo de resumen, parece que la atrofia es común al envejecimiento sano y al patológico y que en ambos casos muestra un decaimiento prácticamente lineal²⁴⁴, aunque más acentuado en el envejecimiento patológico. Por otra parte existe evidencia de que no sólo la materia gris está afectada en la EA sino que también la materia blanca presenta una pérdida de integridad en los sujetos con EA que afecta a las regiones mediales y la corteza cingulada posterior extendiéndose desde ahí a las regiones temporo-parietales^{255,256}. Finalmente, los estudios de metabolismo realizados con FDG-PET describen una relación entre el avance de la EA y un decremento metabólico centrado en las regiones de la corteza cingulada posterior y el precuneus^{16,162}.

Cambios en neuroimagen

El estudio con neuroimagen de la actividad cerebral en pacientes con DCL y con EA se ha centrado especialmente en el análisis y caracterización de la actividad cerebral en estado de reposo. Y en el estado de reposo la red cerebral más conocida y estudiada es la Default Mode Network (DMN) o en español red por defecto²⁰. Esta red se superpone casi milimétricamente con las regiones donde más se acumula amiloide^{18,257} y parcialmente con las regiones que sufren los primeros indicios de hipometabolismo¹⁶. Ya se ha explicado que existe una relación entre el nivel de acumulación de A β y la actividad neuronal²¹⁷, hasta el punto de existir una relación bidireccional (inversa) entre la conectividad funcional y la concentración de A β ²². De hecho, un trabajo reciente muestra que el fallo sináptico precede a la aparición de las placas de amiloide²³. Esto hace que el estudio de la actividad cerebral con neuroimagen sea una de las piezas claves de cara a poder crear biomarcadores tempranos de la EA. Un enfoque a tener en cuenta es el de la diasquisis²⁵⁸. Esta idea, que recuerda al famoso efecto mariposa, establece que el daño en una determinada región puede degenerar en anomalías funcionales entre regiones distintas y que pueden estar lejos y aparentemente ser independientes del daño original. Con esta idea un trabajo reciente²⁵⁹, ha estudiado el posible efecto que tiene el hipometabolismo local en las comunicaciones entre regiones distantes.

Básicamente, en la literatura de neuroimagen hay dos tipos de resultados, aquellos que describen las características oscilatorias de la señal registrada que fundamentalmente dan información local acerca del comportamiento de la actividad cerebral y aquellos que analizan los patrones de conectividad funcional entre las distintas regiones del cerebro. La primera visión posee un carácter más estático y ha sido estudiada desde el inicio de la neuroimagen²⁶⁰, mientras que la segunda ofrece una perspectiva dinámica del funcionamiento del cerebro y es una disciplina que aun estando en boga hoy día prácticamente acaba de empezar^{261,262}.

El patrón de actividad electrofisiológico de la EA consiste en progresivo incremento de la actividad en bandas lentas (theta y luego delta) seguido de un decremento en la actividad de las bandas de frecuencias altas (beta y luego alfa) conforme la enfermedad se desarrolla²⁶³. Esto ha dado lugar a la explicación del proceso como un enlentecimiento progresivo del espectro^{264–266} que se desplaza desde regiones más posteriores a regiones más frontales. El motivo por el que esto ocurre no está completamente aclarado pero la tesis predominante se basa en dos mecanismos no excluyentes. Por un lado está la hipótesis colinérgica²⁶⁷ que establece la relación que existe entre la depresión del sistema colinérgico y la consiguiente modulación de los ritmos oscilatorios electrofisiológicos que coincide plenamente con lo que ocurre en EA. Por otro, se ha descrito que una degradación de la sustancia blanca en las vías corticotalámicas genera un patrón de actividad delta muy característico²⁶⁸. Y la EA encaja con ambos ya que se han descrito procesos neuropatológicos que conllevarían tanto una desconexión tálamo-cortical²⁶⁹ como una degradación del sistema colinérgico^{135,267,270}. Cuando se ha estudiado los cambios espectrales en la EA se ha demostrado la existencia de relaciones entre grado de enlentecimiento y el de deterioro cognitivo²⁷¹, el de atrofia²⁷², o el de hipometabolismo medido con PET²⁷³. Esta metodología es muy importante pues las características espectrales de la actividad electromagnética cerebral en reposo son una de las mejores bazas que se tienen en neuroimagen para conseguir un biomarcador viable en cuanto a poder ser usado en cualquier hospital. Posee un balance entre sencillez (tanto de registro como de análisis) y fiabilidad (el espectro de potencia es una de las características más replicables en neurociencia) difícil de igualar.

El resultado predominante en el estudio de la conectividad funcional es que conforme avanza la EA, la FC se va reduciendo de manera similar a como pasaba en el envejecimiento sano pero en el caso de la EA, la reducción es más acentuada. El decremento de FC se ha encontrado fundamentalmente en la DMN^{274–278}, que es la red más afectada por la acumulación de A β aunque no la única²⁷⁴. Además en la red ejecutiva se ha descrito en diversos estudios independientes^{279,280} un incremento de FC en los sujetos con amiloidosis. Dado que la DMN es una red que se desactiva cuando se realiza

una tarea, la actividad de la red puede ser medida tanto durante su periodo de activación (para comparar como de activa está entre dos grupos) como en su periodo de desactivación, ya que una desactivación deficiente generará una señal anormalmente alta de la DMN durante la realización de la tarea⁴¹. Este paradigma es utilizado frecuentemente para el estudio de la actividad cerebral en envejecimiento sano y patológico debido a que con la edad disminuye la flexibilidad cognitiva y eso conllevaría a que el proceso de activación/desactivación de las redes neuronales esté dañado. La reducción de la FC en la DMN también ha sido descrita en personas en riesgo de padecer EA como por ejemplo sujetos sanos cognitivamente pero con amiloidosis⁴¹⁻⁴⁵. Todos estos resultados tienen sentido cuando se establece que el cerebro es un sistema complejo en el que las redes funcionales están de alguna forma interrelacionadas entre sí. Una prueba de ello puede ser la evidencia de que no sólo la DMN está afectada en la EA^{49,274}. Uno de los resultados más interesantes es que en ocasiones la FC está incrementada en los sujetos con patología o en los sujetos con EA.

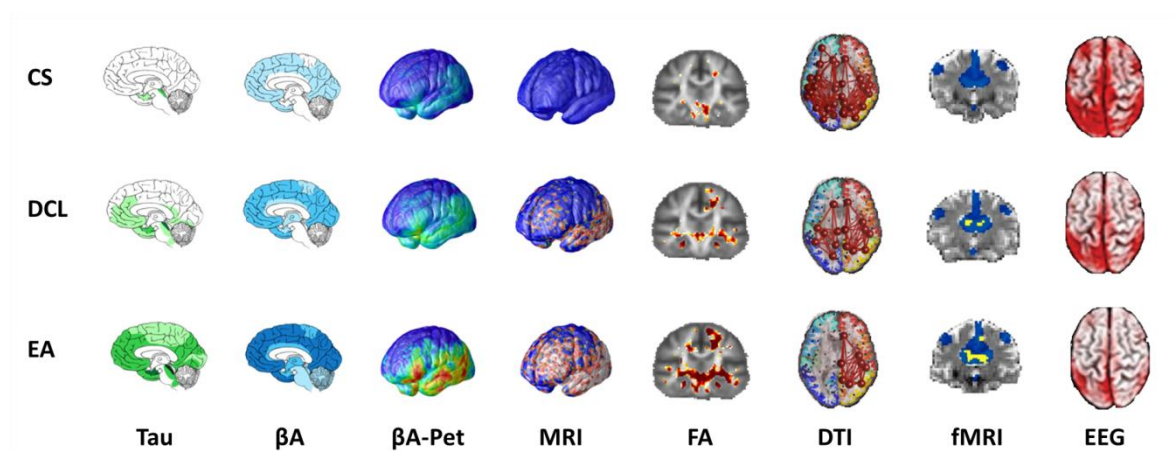


Figura 1.14. Cambios asociados con la progresión de la enfermedad de Alzheimer (EA) con diferentes técnicas de neuroimagen. Tau y βA muestran los cambios histológicos de las acumulaciones de tau y beta-amiloide²⁸¹. PiB-PET muestra la relación entre la concentración de beta-amiloide medida con PET y el rendimiento cognitivo. MRI muestra la progresión de la reducción de materia gris²⁸². FA modela el decremento de anisotropía fraccional en la EA (menos FA mayor degeneración de la materia blanca). DTI ejemplifica la variación de la conectividad estructural conforme avanza la EA²⁸³. fMRI muestra como como con el avance de la enfermedad la conectividad funcional medida con resonancia magnética funcional decrece (amarillo) en el precuneus (azul)²⁸⁴. EEG representa el decrecimiento de la potencia en la banda alfa (8-10Hz) medido con electroencefalografía²⁶. CS = controles sanos, DCL = deterioro cognitivo leve. Figura modificada de²⁸⁵

Esto parece ocurrir especialmente en la comunicación con el hipocampo aunque también ocurre entre otras regiones^{43,44,48,168,286,287}. Esta compensación ha sido explicada como una consecuencia de la vulnerabilidad de la DMN ante determinadas enfermedades²⁸⁸, o quizás por el mal funcionamiento de la comunicación entre diversas redes^{49,287}. El alelo

APOE- ϵ 4, el principal factor genético de riesgo de la EA, parece tener un rol importante en la actividad cerebral. Un estudio realizado con fMRI en ancianos sanos también ha encontrado una disminución de la FC en regiones posteriores y un incremento en la región frontal¹⁶³. Este resultado ha sido hallado también en una población que era portadora del alelo APOE- ϵ 4 pero sin acumulación de A β ni muestra de déficit cognitivo¹⁶⁴. Recientemente, un trabajo realizado con EEG³⁵, ha descrito como la presencia del alelo APOE- ϵ 4 afecta a la FC en ancianos con DCL. En este caso los portadores del alelo mostraban un decremento en la conectividad interhemisférica frontal. En cuanto a la caracterización de la actividad electrofisiológica en los sujetos con DCL, existen numerosos estudios que han descrito unos patrones de conectividad funcional anómalos (fundamentalmente un decremento de la FC en la banda alfa) respecto a poblaciones control^{26,34,35,289–291}. Para una consulta pormenorizada de todos los resultados se recomiendan las revisiones de^{26,36,55}. Estos resultados concuerdan con la visión de la EA como un síndrome de desconexión²⁹², en el que se establece el origen de la enfermedad en una pérdida progresiva de la integridad sináptica, lo que acaba por desestabilizar a la red. Esta “desconexión” parece que no sólo ocurre al nivel funcional sino que también a nivel estructural. La anisotropía fraccional está disminuida y la difusividad media incrementada en regiones mediales-parietales y frontales^{134,293–295}, donde la afectación de la materia blanca correlacionaba con el grado de deterioro cognitivo. Una serie de trabajos de nuestro grupo en Madrid ha descrito como el deterioro cognitivo asociado a la EA puede modular los patrones de FC. Para ello se analizaron los patrones de FC de la actividad cerebral registrada con MEG durante la ejecución de una tarea de memoria sencilla en sujetos con QSM²⁹⁶, DCL²⁹¹ y DCL que evolucionan a EA²⁹⁷. En primer lugar, analizando la FC de los sujetos con DCL se descubrió que éstos presentaban una hiperconectividad frontal que fue descrita como compensatoria, ya que las personas con DCL no mostraban menos eficiencia en la realización de la tarea que los controles. Resulta interesante que al analizar la actividad de los sujetos con QSM en el segundo estudio, se observó que éstos mostraban una hiposincronización lo que llevó a hipotetizar que el cerebro no “activa” los mecanismos compensatorios hasta que el deterioro es tan avanzado que limitaría la ejecución de la tarea. Por último, se estudió si los sujetos con DCL que evolucionaban a la EA presentaban alguna diferencia respecto aquellos que no y se encontró que los DCL conversores mostraban una hipersincronización posterior. Ya en 2014, con una metodología más desarrollada y una muestra más grande, un estudio en nuestro centro ha encontrado que la hiperconectividad entre regiones antero-posteriores predice que sujetos con DCL acabarán desarrollando la EA⁴⁸. Todo este proceso se describe con el objetivo de ilustrar el enorme potencial de la electrofisiología para estudiar en tiempo real los cambios asociados al proceso degenerativo de la EA. Las técnicas de análisis, las bases de datos y los enfoques aplicados evolucionan día a día

convirtiendo a la neuroimagen en uno de las bases fundamentales de la neurociencia, sin duda una de los campos más multidisciplinarios.

Cambios neurocognitivos

El síntoma cognitivo más conocido de la EA es la pérdida de memoria²⁹⁸. Sin embargo también se dan otros que ocasionan una pérdida gradual de independencia en las actividades de la vida diaria. Estas dificultades afectan a las capacidades de planificación, de la percepción del tiempo y el espacio, de la resolución de problemas, del lenguaje y también cambios de humor y de personalidad que incluyen apatía y depresión²⁹⁹. En un estudio reciente³⁰⁰, se ha estudiado la evolución cognitiva de 895 sujetos cognitivamente sanos a lo largo de varios años y se ha encontrado que la memoria a corto plazo es la primera que muestra cierto declive aunque posteriormente la memoria a largo plazo y la memoria visual recuperan el terreno y acaban siendo las que más rápidamente se deterioran y en mayor grado. En este apartado uno de los factores más importantes es la reserva cognitiva²⁰². Tener una alta o baja educación es fundamental a la hora de retrasar el deterioro cognitivo pues por ejemplo, una alta educación puede retrasar el deterioro en torno a 7 años en comparación con tener una educación baja³⁰¹. Respecto a los problemas en el procesamiento emocional, se sabe que los pacientes con DCL y EA tienen dificultades, a menudo experimentando ansiedad y malestar, cuando son expuestos a las emociones negativas de otros. Un estudio³⁰², ha analizado este comportamiento descubriendo que parece estar relacionado con la existencia de anomalías en el balance entre los volúmenes de los hipocampos y las amígdalas. Por otra parte ya se ha descrito anteriormente todas las correlaciones existentes entre el declive cognitivo y el grado de neuropatología de la EA. Para medir el declive cognitivo se emplean test neuropsicológicos, donde las técnicas más comunes son: la Global Deterioration Scale (GDS) y el Mini Mental State Examination (MMSE). La escala GDS estratifica el grado de déficit cognitivo desde 1 (controles) hasta 7⁸⁷. En ella los sujetos con DCL tendrían un valor de GDS de 3, justo después de las personas con QSM (GDS = 2) y antes de aquellos que padecen demencia (GDS 4-7). La MMSE consiste en 30 cuestiones para analizar diversas funciones cognitivas^{303,304}. En esta escala puntuaciones iguales o inferiores a 24 marcan el estado de demencia y las personas con DCL usualmente obtienen puntuaciones entre 25-27.

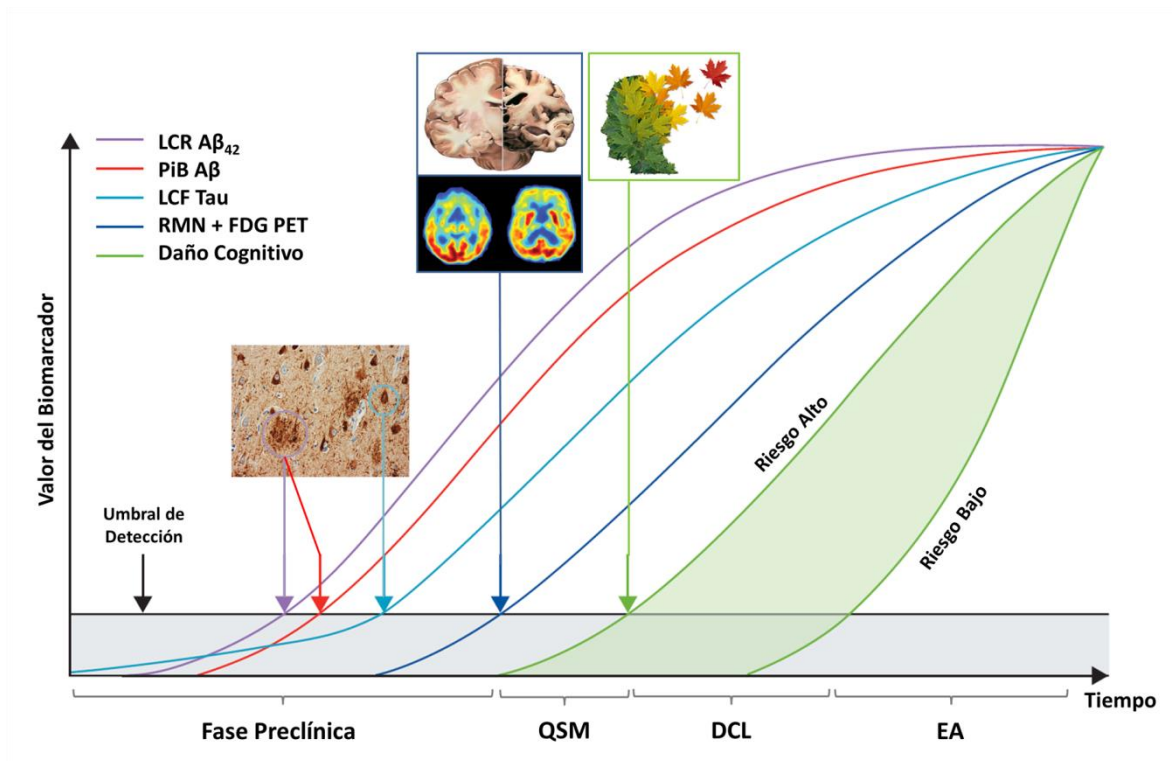


Figura 1.15. Modelo de la evolución de la enfermedad de Alzheimer. El umbral de detección se refiere al valor para el cual son apreciables los cambios patofisiológicos. El área gris denota la zona en la cual los cambios pueden estar ya ocurriendo pero son indetectables con las técnicas actuales. El área verde comprende la evolución del daño cognitivo en función de la variabilidad inherente a cada sujeto (genes, reserva cognitiva...). LCR = líquido cefalorraquídeo, Aβ = beta-amiloide, RMN = resonancia magnética nuclear, FDG = fluorodeoxyglucose, QSM = quejas subjetivas de memoria, DCL = deterioro cognitivo leve, EA enfermedad de Alzheimer. Figura modificada de ³.

1.2.4 Criterios Diagnósticos y Cronograma de la Enfermedad

Recientemente han surgido una serie de trabajos^{5,6,305,306} confeccionados por dos grupos de expertos: The International Working Group (IWG) y The National Institute on Aging and the Alzheimer's Association (NIA-AA). El objetivo es aunar los conocimientos más actuales provenientes de la neuropatología, de la neuroimagen y de la neuropsicología con el objetivo de generar una serie de pautas para el correcto diagnóstico de la EA. Bajo este marco los biomarcadores de Aβ y tau pasan a ser denominados marcadores neuropatológicos, mientras que los biomarcadores asociados a la neurodegeneración (atrofia cerebral y 18F-FDG-PET) pasan a ser considerados marcadores de evolución de la EA³⁰⁶. Con este enfoque, la EA se subdivide en tres etapas principales que son caracterizadas en función del grado del daño cognitivo: una fase preclínica en la que no se observa ninguna merma cognitiva, una con deterioro cognitivo leve y una final con demencia. Los criterios diagnósticos para cada una de ellas están resumidos en la (Figura 1.16) y en la (Figura 1.15) se muestra el modelo de la evolución de la EA. Este esfuerzo en la descripción de las etapas de la enfermedad es de vital importancia, ya que una vez la EA se ha desarrollado el daño es irreversible. De ahí que el estudio de las etapas iniciales sea

el gran objetivo del esfuerzo en la lucha contra la EA. Un trabajo reciente³⁰⁷ ha analizado el riesgo asociado a cada etapa preclínica y ha demostrado que tanto la tasa de mortalidad como la posibilidad de desarrollar la EA crecen en función de en qué etapa se encuentre. Mientras que únicamente un 2% de los sujetos diagnosticados como normales muestran un deterioro cognitivo clínico en un intervalo de 5 años, para los sujetos en la etapa 3 este porcentaje sube al 56%. Así mismo, los riesgos relativos de mortalidad respecto a los sujetos normales son 3.7, 6.0 y 31.5 para los sujetos en las etapas 1, 2 y 3 respectivamente. En definitiva el estudio de estas fases es fundamental para conseguir frenar el avance de la EA, ya que en ellas es aún posible tomar medidas preventivas²⁵.

Niveles de Deterioro Cognitivo

Normal	<ul style="list-style-type: none">• <u>No existe incapacidad</u> para realizar las actividades de la vida diaria.• No se aprecia ningún síntoma persistente de deterioro cognitivo
QSM	<ul style="list-style-type: none">• <u>No existe incapacidad</u> para realizar las actividades de la vida diaria.• Existen quejas subjetivas (del propio sujeto) acerca de un declive de la capacidad cognitiva en comparación con el estado previo normal.• La ejecución en los test neuropsicológicos usados generalmente en AD ha de ser <u>normal</u> para la edad, el sexo y el nivel educativo del sujeto.• El declive cognitivo no ha de estar relacionado con un evento agudo.
DCL	<ul style="list-style-type: none">• <u>No existe incapacidad</u> para realizar las actividades de la vida diaria. Pueden tener problemas leves pero nunca lo suficientemente graves como para perder dicha independencia.• Ha de haber evidencia de un cambio en el estado cognitivo del sujeto atestiguado por el propio paciente, por un informador o por un experto clínico.• Uno o más dominios cognitivos han de presentar <u>alteraciones objetivas</u> para la edad y el nivel educativo del sujeto.• No debe presentar demencia.
Demencia	<ul style="list-style-type: none">• <u>Incapacidad</u> para realizar las actividades de la vida diaria.• Existencia de un déficit gradual progresivo de las funciones cognitivas que no es explicado por enfermedades psiquiátricas.• El deterioro cognitivo se establece mediante una combinación de un historial contado por el paciente y familiares y una evaluación cognitiva objetiva (o de ser necesario una batería de test neuropsicológicos).• Al menos dos dominios cognitivos han de presentar alteraciones objetivas para la edad y el nivel educativo del sujeto.

Diagnóstico: Deterioro Cognitivo + Biomarcadores

Etapas preclínicas del Alzheimer

Nombre	Estado Cognitivo	Aβ	Neurodegeneración
Etapa 0 (controles)	Normal	Negativo	Negativo
Etapa 1	Normal	Positivo	Negativo
Etapa 2	Normal	Positivo	Positivo
Etapa 3	QSM	Positivo	Positivo
Sospecha de no EA	Normal	Negativo	Positivo

→

Etapas prodrómicas del Alzheimer

Nombre	Estado Cognitivo	Aβ	Neurodegeneración
DCL debido a EA (certeza intermedia)	DCL	¿?	Positivo
DCL debido a EA (certeza alta)	DCL	Positivo	Positivo
DCL no debido a EA	DCL	Negativo	Negativo

↓

Diagnóstico del Alzheimer

Nombre	Estado Cognitivo	Evolución de la enfermedad*	Evidencia Histopatológica	Aβ	Neurodegeneración
EA probable	Demencia	Típica	Ninguna	¿?	¿?
EA probable con evidencia histopatológica	Demencia	Típica	Intermedia Intermedia Alta	Positivo ¿? Positivo	¿? Positivo Positivo
EA posible	Demencia	Atípica	Ninguna	¿?	¿?
EA posible con evidencia histopatológica	Demencia	Atípica	Intermedia Intermedia Alta	Positivo ¿? Positivo	¿? Positivo Positivo
Demencia no debido a EA	Demencia	¿?	Alta	Negativo	Negativo

*Figura 1.16. Criterios diagnósticos de la Enfermedad de Alzheimer. Modelo NIA-AA^{5,6,308,309}. QSM (quejas subjetivas de memoria), DCL (deterioro cognitivo leve), EA (enfermedad de Alzheimer), Aβ (biomarcador: acumulación de beta-amiloide). Neurodegeneración (biomarcador: FDG-PET y/o volumetría hipocampo). *Evolución de la enfermedad: Típica (la sintomatología aparece de forma gradual; existe una historia clínica que lo atestigua; ha de existir deterioro en la memoria y en al menos otro dominio cognitivo; no puede haber indicios de otras demencias), Atípica (la enfermedad aparece de forma súbita y/o no existe un historial bien documentado; puede haber indicios de otras demencias).*

2- Métodos

En esta sección se describe la metodología empleada en todos los estudios realizados en esta tesis. Dicha metodología puede dividirse en 3 bloques básicos de actuación sobre los datos: adquisición, establecimiento del marco de trabajo y análisis. El primer bloque comprende la toma de datos y su preprocesado de forma que a la conclusión del mismo se tengan los datos limpios y organizados. En el segundo se realiza el cálculo de las señales en el espacio de fuentes generadoras mediante la solución del problema inverso. Por último se lleva a cabo el análisis de las diferencias en la actividad espectral y en los patrones de conectividad funcional entre los grupos objeto de estudio.

Los grupos incluidos en este trabajo son ancianos en un mayor o menor riesgo de padecer la enfermedad de Alzheimer. El paradigma fundamental es que esta enfermedad afecta en su fase más temprana a la integridad sináptica con lo que se hipotetiza que habrán de aparecer anomalías en la actividad electromagnética emergente registrada con la MEG. Se ha empleado la actividad en reposo porque es la más sencilla de registrar y la que a priori presenta una menor variabilidad entre personas de diferentes razas, niveles culturales, lenguajes maternos, etc. Y también es la más fiable en cuanto a no depender tanto de las capacidades visuales o auditivas y en general a la inherente peculiaridad de cada persona. Además su estudio es hoy día uno de los principales objetos de atención en la neurociencia y su análisis mediante conectividad funcional es hoy día vital en la investigación relacionada con la EA^{257,274,276}. Esta actividad, que podría equipararse al ruido del ralentí del motor de un coche, potencialmente ofrece una información valiosísima acerca de la integridad funcional del cerebro, del mismo modo que un ruido anómalo en el ralentí nos indica posibles problemas en el motor del coche. Por último, reincidir en la relación que parece existir entre el nivel de actividad de una determinada región y el grado de vulnerabilidad asociado a dicho nivel, ya que se ha demostrado que aquellas regiones consideradas *hubs*, las centralitas de la red cerebral, son mucho más susceptibles de verse afectadas por la neuropatología asociada a la EA^{42,310}.

2.1 Registro MEG

En el presente trabajo se han llevado a cabo análisis de datos provenientes de dos laboratorios distintos. Sin embargo ambos cuentan con el mismo Sistema MEG, Elekta Neuromag, y con un diseño de los experimentos. En ambos se han utilizado los registros de actividad biomagnética cerebral en estado de reposo con los ojos cerrados. Las características de las poblaciones son explicadas en los materiales y métodos propios de cada análisis. A continuación se describen las características generales de los registros en ambos laboratorios:

Madrid

Los registros MEG de Madrid consisten en una serie de tareas que incluyen actividad en reposo con ojos cerrados y abiertos, tareas de memoria y un paradigma para el estudio de la activación y desactivación de la DMN. Han sido llevados a cabo a lo largo de varios años bajo el amparo del proyecto de investigación *PSI2009-14415-C03-01* del Gobierno de España. En particular los registros de actividad basal utilizados consisten en tres minutos de actividad muestreada a 1000Hz con un filtro pasa banda online (0.1-330Hz) para evitar aliasing. Como ya se ha mencionado el sistema es un modelo Elekta Neuromag Vectorview con 306 canales; 102 magnetómetros y 204 gradiómetros planares divididos en dos grupos de 102 para cada dirección tangencial a la superficie del cráneo. Tanto en los análisis de Madrid como en los de Japón se han empleado únicamente los datos obtenidos por los magnetómetros debido a tres razones fundamentales: 1) la mayor parte de los resultados de la literatura han sido realizados con ellos y en el caso de esta tesis es imperativo, al tratar con muestras clínicas, poder comparar las conclusiones alcanzadas; 2) la mayoría de los sistemas MEG en funcionamiento usan bien magnetómetros (sistemas 4D) o gradiómetros axiales (sistemas CTF) que poseen un diagrama leadfield (Figura 1.7, D) prácticamente idéntico al de los magnetómetros; y 3) en los estudios realizados se interesaba incluir la actividad de fuentes mediales temporales, en particular de los hipocampos, y dado que son estructuras situadas a una cierta profundidad en el cerebro el uso de los magnetómetros era la única opción debido a que no se limitan a la detección de los campos generados en fuentes cercanas, como es el caso de los gradiómetros. El sistema MEG está instalada dentro en una sala aislada (VacuumSchmelze GmbH, Hanua, Germany, (Figura 1.6, B) situada en el Laboratorio de Neurociencia Cognitiva y Computacional, compartido por las universidades Complutense y Politécnica de Madrid, dentro del Centro de Tecnología Biomédica de la Universidad Politécnica de Madrid.

Para controlar los movimientos de la cabeza durante la realización del registro MEG se colocaron cuatro sensores (bobinas HPI) en cuatro posiciones específicas de la cabeza de los sujetos; 2 situados en la parte frontal, uno a cada lado y 2 situados en la parte temporal, justo detrás de cada oreja. Estas bobinas emiten un campo, de una frecuencia en torno a 175Hz, con el objetivo de percibir los movimientos de la cabeza de los sujetos y así poder corregirlo posteriormente. Además se fijaron otras tres bobinas denominadas *fiducials* que marcan comúnmente en los registros de neuroimagen 3 posiciones anatómicas estándares; el punto *nasion*, situado justo entre el comienzo de la nariz y el punto medio entre ambos ojos y los preauriculares situados justo en el inicio de cada oreja a la altura del orificio auditivo. Las posiciones de todos estos sensores fueron digitalizadas en tres dimensiones mediante un sistema *Fastrak Polhemus*, y además se tomaron no menos de 300 medidas de la superficie del cráneo con el objetivo de generar un modelo tridimensional del mismo (Figura 2.1, A). Este paso es crucial ya que ese modelo es clave a

la hora de conseguir un correcto realineado entre la imagen estructural obtenida con resonancia y los registros MEG. Por último se colocaron 2 electrodos bipolares en las partes inferior y superior del ojo derecho y una toma de tierra en el lóbulo de la oreja derecha con el fin de registrar la ocurrencia de parpadeos, uno de los tres principales artefactos a solventar en la fase de preprocesado (Figura 2.1,D).

Japón

Los registros MEG japoneses se realizaron en el laboratorio de Ciencias del cerebro y la Cognición, del departamento de Neuroimagen Clínica y Experimental del Centro Nacional de Geriatria y Gerontología de Japón. Situado en Obu-Shi, prefectura de Aichi, a unos 30 kilómetros de Nagoya.

Los registros MEG de Japón siguieron exactamente las mismas pautas con la excepción de que en su caso al disponer un sistema MRI en el mismo centro los registros MRI-MEG eran realizados en el mismo día. Para facilitar el realineado entre las imágenes obtenidas con distintas modalidades se fijó en la piel de cada sujeto una pastilla de vitamina E en las posiciones de los *fiducials* de manera que en la MRI aparecen tres puntos luminosos que favorecen extremadamente el proceso de realineado con la MEG.

2.2 Pre-procesado

El preprocesado de los datos MEG tiene básicamente dos etapas independientes: filtrado tsss y limpieza de artefactos. En la primera se lleva a cabo un filtrado mediante el software Maxfilter v2.2 que es propio del sistema Elekta y que consiste en descomposición de las señales MEG en un conjunto de armónicos esféricos con dos posibles orígenes: el interior del casco MEG o el exterior de éste⁷⁷. De esta manera gracias a las características de las ecuaciones de Maxwell es posible reconstruir la señal teniendo en cuenta únicamente las fuentes situadas en el interior del casco. En la (Figura 2.1, B) se muestra el modelo del volumen cuya superficie marca el límite dentro-fuera y en el apartado (1.1.2, Cancelación de ruido) se detalla el método utilizado. Es importante resaltar que aunque en los estudios aquí descritos no se han utilizado los gradiómetros, la información registrada por los mismos también ha sido introducida a través de la aplicación del filtrado tsss. En particular, todos los filtrados tsss se hicieron con la opción de corrección de posibles movimientos de la cabeza, gracias a la información obtenida de las bobinas HPI, y eligiendo las coordenadas del sujeto como eje de referencia. Este punto es importante ya que de hacerse estudios en sensores sería más conveniente definir las coordenadas en las del sistema MEG. Por último, los parámetros empleados en todos los filtrados fueron: umbral de correlación de 0.9, y una ventana temporal de 10 segundos.

La segunda parte consiste en la limpieza y preparación de los datos. El primer paso es la segmentación de los registros MEG en épocas (o trials), de una duración establecida. En

nuestro caso de 4 segundos (Figura 2.1, C). Esta duración no es arbitraria, ya que es el resultado de un balance entre la mayor extensión posible, condición necesaria para tener mayor resolución en la actividad de baja frecuencia, y la minimización de la pérdida de trials debido a la presencia de artefactos, ya que una mayor extensión conlleva una mayor probabilidad de por ejemplo tener un parpadeo. Además hay que tener en cuenta que en los análisis llevados a cabo se asume una cierta estacionaridad de las señales MEG, y esta condición puede perderse si las señales son demasiado largas³¹¹. A continuación se lleva a cabo mediante Fieldtrip³¹² un procesamiento automático en busca de artefactos en la señal de 3 tipos: saltos (*jumps*), musculares y parpadeos (Figura 2.1, D). Para la detección de los artefactos en cada trial, Fieldtrip realiza un filtrado específico para cada tipo de artefacto y después transforma al espacio z-score la señal filtrada mediante la siguiente expresión:

$$Z_{sensor,t} = \frac{x_{sensor,t} - \mu_{sensor}}{\sigma_{sensor}} \quad [2.1]$$

donde μ_{sensor} y σ_{sensor} son respectivamente la media y la desviación típica de cada sensor en cada trial. Una vez en el espacio de Z-scores se aplica un umbral para cada tipo de artefacto y aquellos valores que superan dicho umbral son marcados en rojo (Figura 2.1, D). En este punto se realizó una nueva segmentación de manera que los fragmentos de señal de 4 segundos de duración sin artefactos se ajustasen a la localización de los artefactos. Por ejemplo, al hacer la segmentación inicial se tiene que el trial 1 va de los segundos 1 al 4, el trial 2 de los segundos 5 al 8 y así sucesivamente. Si los artefactos se han localizado en los segundos 1 y 6, con la primera segmentación los dos primeros trials serían descartados mientras que con la segunda el “nuevo” primer trial ahora comprende la señal registrada entre los segundos 2 y 5.

Tras el proceso automático se realizó una inspección visual (Figura 2.1, E) para cada trial en el que se observa en una única ventana el espectro de potencia de cada sensor y el correspondiente al promedio de todos los canales (en verde). La idea con este segundo paso es asegurar que la información frecuencial de cada trial se corresponda aceptablemente con el contorno estándar; el pico de mayor amplitud centrado en el rango 6-12Hz. El motivo por el que los espectros mostrados en la (Figura 2.1, E) no siguen el tradicional contorno $1/f$, es debido a la utilización del filtro tsss que atenúa notablemente la actividad con frecuencias menores a 1 Hz. En esta etapa, únicamente se descartaron trials que poseyeran un espectro de potencia claramente ruidoso. El espectro de potencia fue calculado siguiendo el procedimiento estándar de Fieldtrip y que será detallado en el apartado (2.3.2)

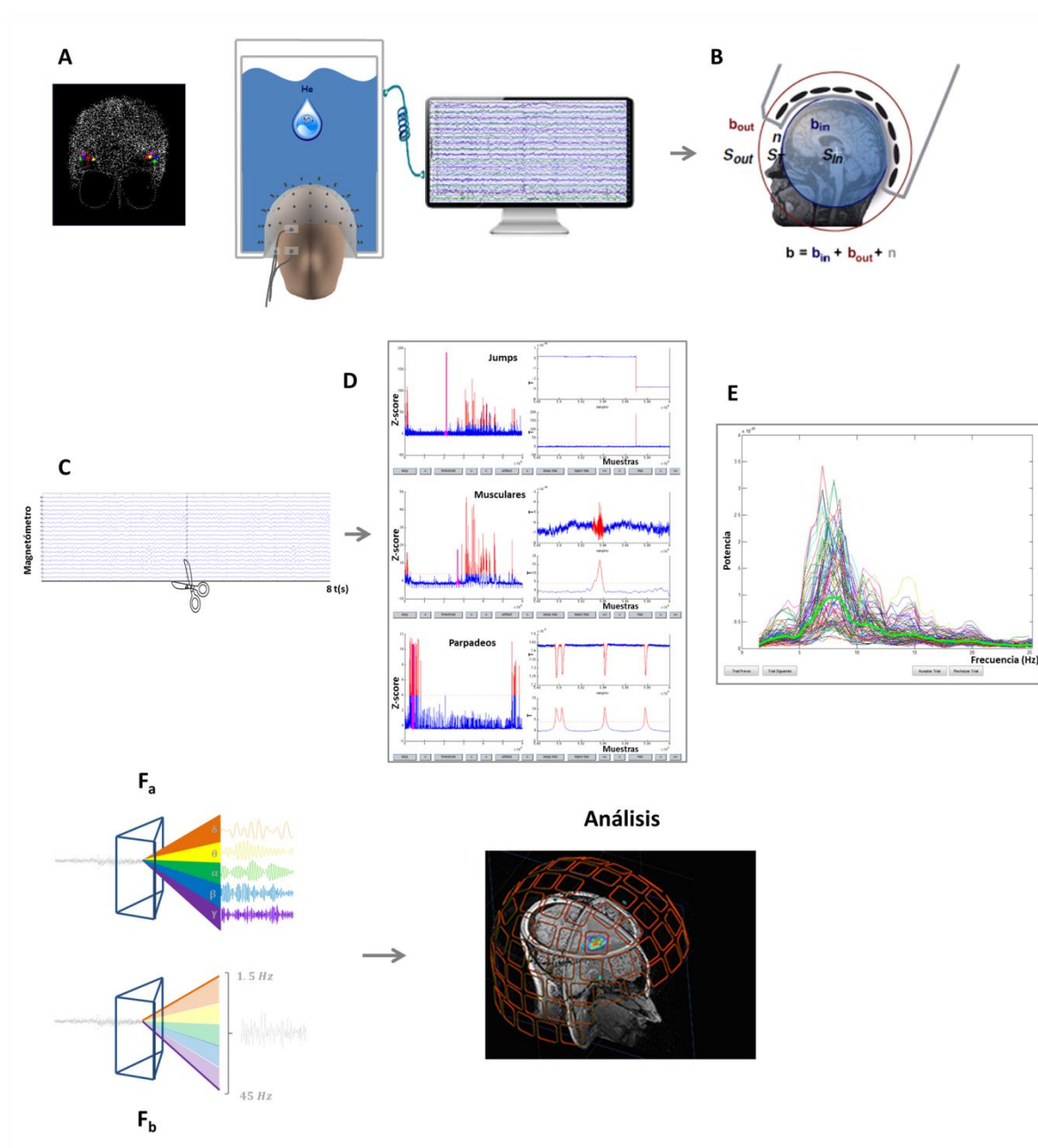


Figura 2.1. Esquema del preprocesado. **A.** Previamente al registro MEG es necesario llevar a cabo la digitalización de la cabeza de los sujetos y se han de fijar los electrodos para la detección de párpadeos. **B.** Filtrado tsss de los datos MEG. **C.** Segmentación de las señales MEG en épocas (o trials) de 4 segundos. **D.** Se realiza un análisis automático mediante Fieldtrip para localizar posibles artefactos; de arriba abajo, Jumps, musculares y párpadeos. **E.** Inspección visual de los trials supervivientes al proceso automático. **F_a.** Filtrado en bandas de frecuencia para los estudios de FC. **F_b.** Filtrado de banda ancha (delta-gamma) para los estudios de potencia. Figura D modificada de ³¹².

En los estudios de este trabajo solo se han tenido en cuenta sujetos que al final del procesado tuvieran al menos 15 trials limpios, lo que equivale a 60 segundos de actividad³¹³.

Filtrado

El filtrado (Figura 2.1, F_a y F_b) en bandas de frecuencia en todos los estudios contenidos en este trabajo ha sido realizado mediante un filtro FIR (*Finite Response Filter*) de orden 1500 diseñado con una ventana Hamming. El filtro fue aplicado haciendo dos pasadas, una hacia adelante y otra hacia atrás, con el fin de evitar distorsiones en la fase. Esto es posible debido a que la distorsión introducida por el filtro FIR es lineal de forma que puede ser revertida mediante una segunda pasada. Con esto se evita introducir posibles sincronizaciones de fase espurias. El filtrado se realizó sobre toda la señal MEG con el fin de evitar efectos de borde. Para el primer estudio (apartado 3.2) de FC las bandas de frecuencia fueron: delta (2-3.9 Hz), teta (4.1-7.9 Hz), alfa (8.1-11.9 Hz) y beta (12.1-29.9 Hz). Para el segundo estudio (apartado 3.4) fueron: delta (2-3.9 Hz), teta (4.1-7.9 Hz), alfa (8.1-11.9 Hz), beta (12.1-29.9 Hz) y gamma(30.1-55.1Hz). En los estudios de potencia se realizó un filtrado pasa banda en el rango 1.5-45Hz en el primero (apartado 3.1), y en el rango 1.5-55Hz en el segundo (apartado 3.3). La diferencia es debida a que la frecuencia de la línea de corriente en Nagoya es 60Hz, mientras que en Madrid es 50Hz.

2.3 Análisis

Una vez se obtuvieron las señales MEG limpias y preparadas se inició el proceso “pico y pala”, también llamado *data mining*, connatural a la investigación y requerido para llevar a cabo con paciencia y sin ceder al desasosiego las mil y una pruebas que a buen seguro serán necesarias. En esta sección se describe la metodología empleada en los estudios de esta memoria. Se ha tratado de exponerlas técnicas empleadas de una forma amplia y lo más didáctica posible, con el único fin de evitar a los posibles lectores/investigadores muchos de los errores que en el proceso de estos estudios han sido cometidos.

2.3.1 Marcos de trabajo

La MEG es una técnica de neuroimagen que requiere de un considerable *know how* por parte de los experimentadores para poder llegar a obtener imágenes utilizables. Es cierto que todas las técnicas de neuroimagen requieren unos conocimientos muy específicos, especialmente en el ámbito de la investigación, pero en el caso de la MEG, y también del EEG, el sistema es fundamentalmente un dispositivo de registro. La fase de análisis de las señales MEG carece en general de procedimientos estandarizados como los existentes en el caso de la MRI. Hoy día existen numerosas iniciativas internacionales³¹⁴ que pretenden acercar las distintas metodologías con el fin de alcanzar una homogeneidad que permita comparar y replicar resultados entre grupos. Además, entender qué tipo de información puede ofrecer la MEG y qué es posible hacer con ella es un proceso fundamental de cara a la propia divulgación de los resultados o a la mejora en el diseño de los paradigmas, ya que al interiorizar las virtudes y defectos de la MEG será mucho más fácil diseñar tareas que le saquen el máximo provecho. Por esto último se ha decidido crear la (Figura 2.2) con

una descripción de la neuroimagen de la MEG. Se ha dividido en dos apartados en base a los dos marcos de trabajo fundamentales: sensores (Figura 2.2, ABC) y fuentes generadoras (Figura 2.2, DEF). Decidir en qué espacio se va a trabajar debería ser una de las primeras decisiones cuando se tiene previsto desarrollar un proyecto con MEG ya que ambas poseen unas determinadas virtudes y defectos específicas con las que es necesario interactuar desde los primeros compases del análisis. Por otra parte, es cierto que siempre se puede cambiar de opinión y virar a otro marco, ya que ambos comparten numerosos aspectos pero ello tendrá un coste en la mayoría de los casos, especialmente en aquellos en los que el diseño del paradigma sea muy preciso. Por ejemplo, mientras que en sensores no es necesaria la disponibilidad de una MRI estructural y el procesado de los datos es rápido y relativamente sencillo, para el análisis en fuentes es muy recomendable tener la MRI y la metodología es más larga y complicada pero a cambio la resolución especial de un análisis en fuentes es incomparablemente mayor. Otro factor importante a tener en cuenta es que toda la metodología expuesta en esta tesis se refiere de manera directa o indirecta al análisis de actividad cerebral basal con ojos cerrados. Esta metodología es muy diferente a la empleada en los análisis de actividad evocada tras un estímulo, ya que la ocurrencia de dicho estímulo establece en cada trial el origen de tiempos haciendo posible la aplicación de la teoría de respuesta lineal³¹⁵.

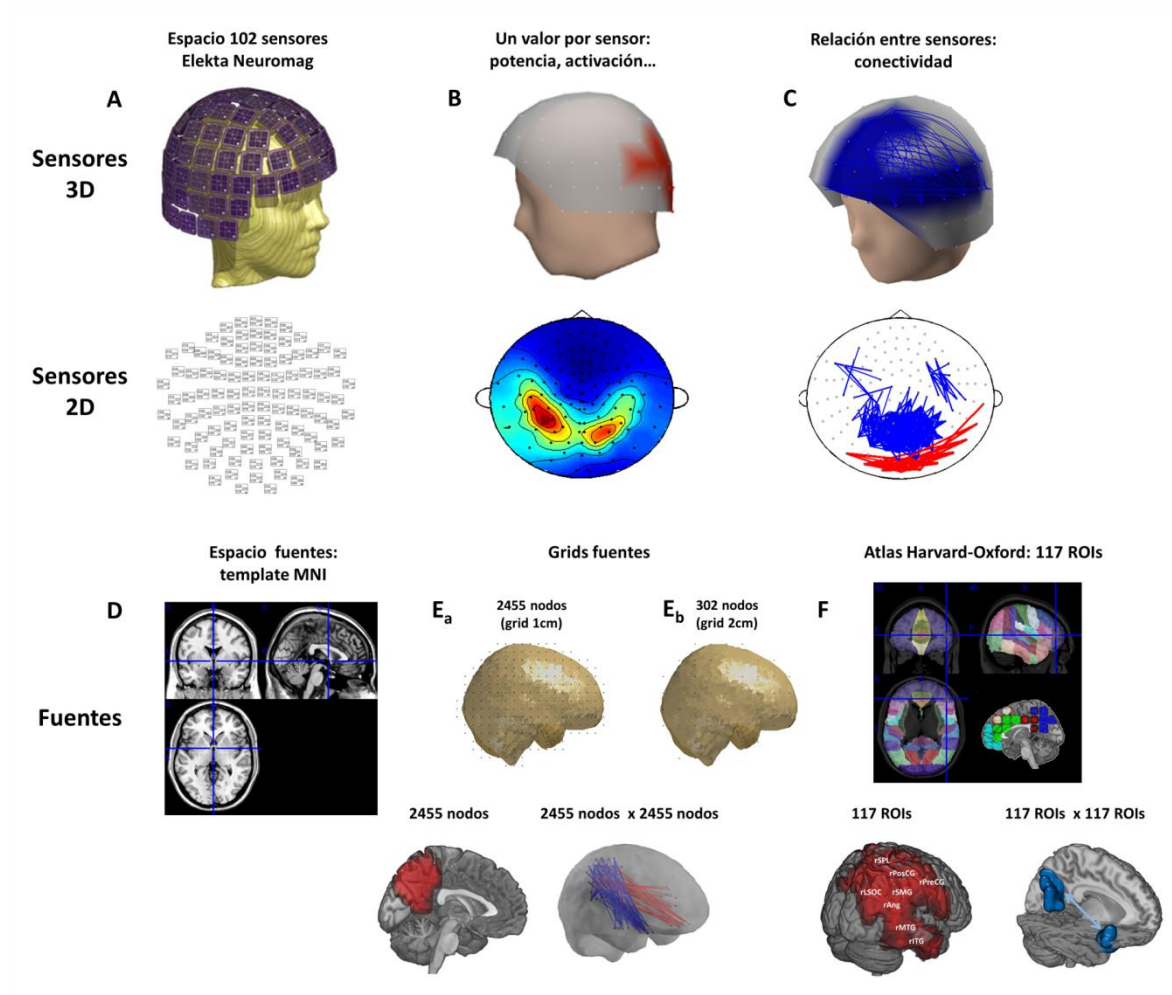


Figura 2.2. Marcos de análisis. **A.** Sensores del sistema Elekta Neuromag, en la parte superior se muestra su distribución sobre la cabeza e inmediatamente debajo una proyección en 2 dimensiones de los mismos. **B.** Representación típica de resultados, tanto en 3D como en 2D, que involucran un único valor por sensor (e.g. potencia, activación, FC media). **C.** Visualización de resultados de FC en los que se tienen relaciones entre sensores. **D.** MRI del modelo normalizado del Montreal Neurological Institute (MNI) empleado en la mayoría de los estudios de neurociencia como referencia común. **E_a.** Grid regular con 2455 nodos (fuentes generadoras) espaciados 1 cm. Debajo se muestra la representación de los resultados de potencia/activación y FC. **E_b.** Grid regular con 302 nodos espaciados 2 cm. **F.** Atlas Harvard-Oxford empleado para etiquetar cada nodo como perteneciente a una región anatómica dada. De esta manera se puede pasar de 2455 nodos a 117 ROIs que además tienen un significado neurológico.

Análisis en sensores del sistema MEG

El análisis en sensores MEG presenta la ventaja de llevarse a cabo en una medida directa de la actividad electromagnética cerebral en contraposición al análisis en el espacio de fuentes en el que el estudio se realiza sobre una medida inferida. Además, y precisamente por esa razón, los sensores constituyen el espacio ideal para un biomarcador debido a la sencillez de la ejecución del registro y de su posterior análisis, y a que no siempre se tiene acceso a una MRI.

Sin embargo cuenta con varios inconvenientes que a la postre han sido decisivos para realizar todos los estudios de esta tesis en el espacio de fuentes generadoras. El primer problema es el llamado efecto de conducción de volumen. Consiste en que dos sensores pueden parecer estar sincronizados cuando en verdad la aparente sincronización se debe a que están registrando la actividad de la misma fuente. El segundo está relacionado con el hecho de no tener especificidad espacial. Como la actividad electromagnética cerebral está registrada mediante la distribución de sensores del casco, será posible describir patrones de activación o de conectividad (Figura 2.2, BC), pero no se podrán realizar asunciones sobre el origen de la actividad detectada. Además, existe una dificultad añadida a la hora de generar un espacio normalizado para la comparación de los sujetos. El sistema MEG posee una serie de algoritmos preparados para mejorar este aspecto, como por ejemplo, mediante la corrección del movimiento de la cabeza o la transformación de los datos MEG al sistema de referencia del casco. Pero estas herramientas no ofrecen la misma precisión que la aportada por la combinación de la información estructural particular a cada sujeto y la señal MEG registrada.

Todos estos inconvenientes son inexistentes o al menos están muy disminuidos al trabajar en el espacio de fuentes. Además en los últimos años la metodología para la resolución del problema inverso se ha estandarizado notablemente, facilitando el acceso a trabajar en el espacio de fuentes. Por ello, y sin descartar los sensores para trabajos futuros, se decidió realizar todos los estudios en el espacio de fuentes.

Análisis en el espacio de fuentes generadoras

El análisis en el espacio de fuentes generadoras se ha convertido en la actualidad en el estándar de la investigación en neurociencia. Además de solventar el problema de la precisión espacial se minimiza el de la conducción de volumen y sobre todo se favorece la transversalidad de la MEG en el seno del conjunto formado por todas las técnicas de neuroimagen. Para trabajar en el espacio de fuentes es recomendable disponer de la resonancia magnética del sujeto ya que si no habrá que usar un template y éstos en general no dan tan buenos resultados como las resonancias originales. En todos los estudios aquí descritos se tenían las resonancias magnéticas de los sujetos y en algunos casos, en los estudios llevados a cabo en colaboración con el grupo japonés, también imágenes realizadas con PET.

A continuación se describirán en primer lugar las bases teóricas del procedimiento de resolución del modelo inverso y posteriormente se expondrán todos los pasos dados en los análisis de los estudios incluidos en esta memoria. Para una explicación más detallada de la metodología puede consultarse^{66,69,316}.

Aproximación cuasi-estática de las ecuaciones de Maxwell

El análisis de los campos electromagnéticos cerebrales se engloba dentro del marco de la teoría electromagnética en medios continuos que está regida por las ecuaciones de Maxwell:

$$\nabla \times \mathbf{E} = -\frac{\partial \mathbf{B}}{\partial t} \quad [2.2]$$

$$\nabla \times \mathbf{B} = \mu \left(\mathbf{J} + \varepsilon \frac{\partial \mathbf{E}}{\partial t} \right) \quad [2.3]$$

$$\nabla \cdot \mathbf{E} = \frac{\rho}{\varepsilon} \quad [2.4]$$

$$\nabla \cdot \mathbf{B} = 0 \quad [2.5]$$

donde \mathbf{E} es el campo eléctrico, \mathbf{B} es el campo magnético, μ y ε son la permeabilidad magnética y la permitividad eléctrica respectivamente, del tejido, \mathbf{J} la densidad de corriente eléctrica y ρ la densidad de carga. Además mediante las ecuaciones [2.3] y [2.4] se obtiene la expresión para la continuidad de carga:

$$\nabla \cdot \mathbf{J} + \frac{\partial \rho}{\partial t} = 0 \quad [2.6]$$

donde \mathbf{J} ya se describió en la ecuación [1.6] que tenía dos componentes, la corriente intracelular \mathbf{J}_p y la corriente de volumen \mathbf{J}_v que se relacionaba directamente con la conductividad (σ) del medio:

$$\mathbf{J} = \mathbf{J}_p + \mathbf{J}_v = \mathbf{J}_p + \sigma \mathbf{E} \quad [2.7]$$

El objetivo es describir cómo los campos eléctricos y magnéticos cerebrales son generados por corrientes que existen dentro de un conductor con un volumen determinado. Dicho conductor es el cerebro, que supondremos aproximadamente un volumen isotrópico de manera que ambas permitividades pueden ser consideradas escalares. En el caso de la conductividad, también se podrá considerar que la conductividad es escalar y constante dentro del volumen de conducción (volumen del cerebro), si bien existen modelos que asemejan el cerebro a una superposición de capas, cada una con un valor de conductividad específico. Por último, debido a que el cerebro posee una susceptibilidad magnética (χ) muy parecida a la del agua ($\chi \approx -9 \cdot 10^{-6}$)⁶⁹, se puede asumir que su permeabilidad (μ) es la misma que la del vacío (μ_0):

$$\mu = (1 + \chi)\mu_0 \approx \mu_0 \quad [2.8]$$

El siguiente paso es definir el régimen cuasiestático que conlleva la desestimación de todos los términos con derivadas temporales en las ecuaciones [2.2][2.3]y [2.6]. Esto es

posible porque las frecuencias típicas de los campos electromagnéticos cerebrales son muy bajas, por debajo de 1000Hz y en la mayoría de los casos la actividad de interés tiene una frecuencia por debajo de 100Hz. De esta forma las ecuaciones de Maxwell y la ecuación de continuidad quedan:

$$\nabla \times \mathbf{E} = 0 \quad [2.9]$$

$$\nabla \times \mathbf{B} = \mu_0 \mathbf{J} \quad [2.10]$$

$$\nabla \cdot \mathbf{E} = \frac{\rho}{\varepsilon} \quad [2.11]$$

$$\nabla \cdot \mathbf{B} = 0 \quad [2.12]$$

$$\nabla \cdot \mathbf{J} = 0 \quad [2.13]$$

De las ecuaciones [2.13] y [2.7] se obtiene:

$$\nabla \cdot \mathbf{J}_P = -\nabla \cdot \sigma \mathbf{E} = \sigma \nabla^2 V \quad [2.14]$$

donde V es el potencial eléctrico. La ecuación [2.14] representa el camino para conocer \mathbf{J}_P y con ella el campo magnético.

Problema directo

La resolución del problema directo entraña la descripción de los campos electromagnéticos medidos en los sensores de una distribución conocida de corrientes en el interior del cerebro. En electrofisiología resolver este problema implica determinar el denominado leadfield (\mathbf{L}), que representa un modelo biofísico del cerebro. Dada una corriente \mathbf{J}_P situada en \mathbf{r}_S , el leadfield para un magnetómetro situado en \mathbf{r} tiene la siguiente expresión³¹⁷:

$$\mathbf{n} \cdot \mathbf{B}(\mathbf{r}) = \int d^3r \mathbf{J}_P(\mathbf{r}_S) \cdot \mathbf{L}(\mathbf{r}_S, \mathbf{r}, \mathbf{n}) \quad [2.15]$$

En el caso de la MEG, \mathbf{L} es una matriz con dimensiones F (número de fuentes) x N (número de sensores) x 3 direcciones espaciales que relaciona la componente normal del campo \mathbf{B} medido en cada magnetómetro con la corriente \mathbf{J}_P . Para entender mejor lo que significa, se puede tomar como ejemplo cualquiera de los estudios de esta tesis. En un estudio que se haya llevado a cabo con un grid de 1 cm se tienen 2455 dipolos de corriente y 102 magnetómetros del sistema MEG. En consecuencia las dimensiones de la matriz \mathbf{L} son 2455x102x3. Es decir, \mathbf{L} construye las tres componentes espaciales del campo medido en cada magnetómetro generado por los 2455 dipolos de corriente. Matricialmente implica que el campo medido por el magnetómetro i se resuelve mediante el producto escalar del

leadfield para ese magnetómetro y \mathbf{J}_p . Desde otra perspectiva, para un dipolo de corriente en particular, el leadfield tendrá dimensiones 102x3 y en este caso se corresponde con la respuesta a impulso de la fuente generadora en particular.

Para la resolución del leadfield en todos los estudios de esta tesis se ha empleado el método publicado por Guido Nolte³¹⁷ que emplea un modelo esférico corregido (*single Shell*). Es un modelo compuesto por una única capa y es el más empleado en la resolución del problema inverso con sistemas MEG Elekta. El proceso está implementado en el toolbox Fieltrip³¹², y ofrece una calidad notable cuando ha sido comparado con otros métodos, llegando incluso a mostrar resultados similares a modelos multicapa³¹⁸. El método consta de tres fases diferenciadas: 1) se define la expresión general del leadfield en el régimen cuasiestático; 2) se calcula el leadfield para un conductor esférico, que sirve como primera aproximación al cerebro; 3) mediante el uso de la información anatómica proporcionada por la MRI, se aplica una corrección al modelo esférico anterior mediante una superposición de funciones armónicas.

En el régimen cuasiestático las ecuaciones para el leadfield se pueden reducir a³¹⁷:

$$\mathbf{L} = \mathbf{L}_x - \nabla U \quad [2.16]$$

$$\nabla \cdot \sigma^T \mathbf{L} = 0 \quad [2.17]$$

donde \mathbf{L}_x es el leadfield de un conductor de volumen arbitrario y U es una función. En el caso del modelo empleado en esta tesis U es la corrección que se aplicará para obtener un volumen conductor más realista y \mathbf{L}_x es el leadfield de una esfera que puede ser obtenido mediante la ecuación [2.15] y la expresión del campo magnético para un conductor esférico³¹⁹.

Para un conductor esférico el campo magnético generado en la dirección radial fuera de la esfera, en el punto \mathbf{r} , viene dado por la ecuación de Biot-Savart:

$$B_r(\mathbf{r}) = \frac{\mu_0}{4\pi} \int \frac{\mathbf{J}_p(\mathbf{r}_s) \times (\mathbf{r} - \mathbf{r}_s)}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}_s|^3} dV' \cdot \mathbf{e}_r \quad [2.18]$$

donde \mathbf{e}_r es el versor en la dirección radial y el origen está fijado en el centro de la esfera. Si la fuente generadora es un dipolo como el descrito en la ecuación [1.7] entonces la expresión [2.18] se torna:

$$B_r(\mathbf{r}) = \frac{\mu_0}{4\pi} \frac{\mathbf{Q} \times (\mathbf{r} - \mathbf{r}_s) \cdot \mathbf{e}_r}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}_s|^3} \quad [2.19]$$

La ecuación para el leadfield de un conductor esférico puede ser resuelta mediante las ecuaciones [2.15] y [2.19] obteniéndose³¹⁹:

$$\mathbf{L}_{Cond\ Esférico}(\mathbf{r}) = \frac{\mu_0}{4\pi} \frac{(\mathbf{r} - \mathbf{r}_S) \times \mathbf{e}_r}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}_S|^3} \quad [2.20]$$

La expresión [2.19] puede ser desarrollada para obtener el valor del campo magnético total. Sabiendo que $\mathbf{B} = -\nabla\Phi_m$, donde Φ_m es el potencial magnético escalar, y que el potencial en el infinito tiende a cero se llega a la ecuación del campo magnético de un dipolo de corriente en una esfera homogénea es³¹⁹:

$$\mathbf{B}(\mathbf{r}) = \frac{\mu_0}{4\pi F^2} (F\mathbf{Q} \times \mathbf{r}_S - (\mathbf{Q} \times \mathbf{r}_S \cdot \mathbf{r})\nabla F) \quad [2.21]$$

siendo:

$$F = a(\mathbf{r} \cdot \mathbf{a} + ra) \quad [2.22]$$

$$\mathbf{a} = \mathbf{r} - \mathbf{r}_S \quad a = |\mathbf{a}| \quad r = |\mathbf{r}| \quad [2.23]$$

La conductividad no está incluida en la ecuación [2.21] lo que implica que un conductor con simetría esférica se comporta como si fuera homogéneo. Otra característica de este tipo de conductores es que si el dipolo está orientado radialmente la expresión [2.21] será cero, pues $\mathbf{Q} \times \mathbf{r}_S = 0$. Por último, para una distribución de corrientes \mathbf{J} , el campo \mathbf{B} en el exterior del volumen se calculará mediante la superposición de los campos debidos a cada dipolo y determinados con la expresión [2.21].

Para aplicar la corrección al modelo esférico se utilizan funciones armónicas elegidas de forma que el leadfield sea tangente a la superficie del volumen conductor. $U(\mathbf{r})$ se expande:

$$U(\mathbf{r}) = \sum_{m=1}^M a_m U_m(\mathbf{r}) \quad [2.24]$$

siendo U_m el conjunto de funciones armónicas esféricas³¹⁷. De esta forma el cálculo del leadfield se reduce a la determinación de los coeficientes a_m para cada magnetómetro mediante la aplicación de la condición de contorno en la superficie del conductor representada por N puntos (\mathbf{r}_n):

$$\mathbf{n}_n \cdot \mathbf{L}(\mathbf{r}_n) = 0 \quad [2.25]$$

Esta condición no puede ser cumplida para todos los puntos de la superficie para un conjunto de funciones U_m finito así que los coeficientes a_m se determinan mediante la minimización de la siguiente expresión:

$$\sum_n \left(\mathbf{n}_n \cdot \mathbf{L}_{Cond\ Esférico}(\mathbf{r}_n) - \sum_m a_m \mathbf{r}_n \cdot \nabla U_m(\mathbf{r}_n) \right)^2 \quad [2.26]$$

Si se llama \mathbf{a} al vector de coeficientes a_m , \mathbf{b} al vector de coeficientes $b_n = \mathbf{n}_n \cdot \mathbf{L}_{Cond\ Esférico}(\mathbf{r}_n)$ y \mathbf{C} a la matriz con coeficientes $C_{nm} = \mathbf{n}_n \cdot \nabla U_m(\mathbf{r}_n)$ entonces los coeficientes vienen dados por:

$$\mathbf{a} = (\mathbf{C}^T \mathbf{C})^{-1} \mathbf{C}^T \mathbf{b} \quad [2.27]$$

de forma que el campo generado por un dipolo de momento magnético \mathbf{Q} situado en \mathbf{r}_s será:

$$\mathbf{n} \cdot \mathbf{B}(\mathbf{r}) = \mathbf{Q} \cdot \mathbf{L}_{Cond\ Esférico}(\mathbf{r}_s) - \sum_m a_m \mathbf{Q} \cdot \nabla U_m(\mathbf{r}_s) \quad [2.28]$$

Problema inverso

El problema inverso no posee una única solución ya que distintas distribuciones de corrientes pueden generar el mismo campo medido por los sensores en el exterior del cráneo. Esto implica que los modelos de resolución del problema inverso deberán conllevar ciertas asunciones que se ajusten con las características particulares de los campos electromagnéticos cerebrales. Además, para resolver el problema inverso es necesario tener un modelo de fuentes. Dicho modelo generalmente consta de un número determinado de dipolos de corriente distribuidos regularmente en un mallado tridimensional.

Hoy día el método más utilizado, y el que se ha empleado en los estudios de esta tesis, es Beamformer^{53,320}. El Beamformer es un filtro espacial adaptativo que estima la actividad en cada dipolo de manera independiente. El método funciona de una manera similar a los filtrados temporales pasabanda, en los cuales se selecciona el contenido frecuencial de una señal, sólo que en este caso el filtrado espacial selecciona las señales que provengan de un determinado volumen. Para un dipolo situado en \mathbf{r}_s , del que se desconoce su orientación, se necesitará un vector de beamformer consistente en tres filtros espaciales, uno para cada eje cartesiano. La corriente en el dipolo en cada paso de tiempo se podrá determinar mediante³²¹:

$$\mathbf{y}(t) = \mathbf{W}^T \mathbf{m}(t) \quad [2.29]$$

donde $\mathbf{y}(t)$ es un vector de 3 componentes, \mathbf{W}^T es el filtro espacial que consiste en una matriz con dimensiones $3 \times N$ y $\mathbf{m}(t)$ las medidas en los sensores.

En el caso ideal, el filtro debería dejar pasar con ganancia unidad las señales provenientes de una región centrada en \mathbf{r}' y de radio δ y bloquear las correspondientes a otras localizaciones $\mathbf{r} \neq \mathbf{r}'$:

$$W_r^T L_r = \begin{cases} 1, & \|\mathbf{r} - \mathbf{r}'\| \leq \delta \\ 0, & \|\mathbf{r} - \mathbf{r}'\| > \delta \end{cases} \quad [2.30]$$

Así pues, la clave de esta metodología es encontrar los valores adecuados del filtro. Para ello, se han desarrollado diversas aproximaciones de las cuales dos son las más relevantes: DICS (*Dynamical Imaging of Coherence*) y LCMV (*Linearly Constrained Minimum Variance Beamformer*). Ésta última, ha sido la empleada en los estudios llevados a cabo para esta tesis.

La localización por varianza mínima localmente restringida consiste en la estimación del $\mathbf{W}_{r'}$ que minimiza la varianza en la salida del filtro mientras se cumple la restricción impuesta por la ecuación [2.30].

$$\min[\text{traza}(\mathbf{W}_{r'} \mathbf{C} \mathbf{W}_{r'}^T)] \quad [2.31]$$

Donde \mathbf{C} es la matriz de covarianza de los datos MEG. La solución a esta ecuación es⁵³:

$$\mathbf{W}_{r'} = \frac{\mathbf{L}_{r'}^T \mathbf{C}^{-1}}{[\mathbf{L}_{r'}^T \mathbf{C}^{-1} \mathbf{L}_{r'}]} \quad [2.32]$$

De esta forma, aplicando el filtro en cada paso de tiempo sobre las N medidas de los sensores se podrá reconstruir la actividad del dipolo situado en \mathbf{r}' . Además si modifica \mathbf{r}' se podrá reconstruir la actividad neuronal en cualquier localización.

Una fuente de error en Beamformer es su incapacidad para resolver fuentes con una actividad muy correlacionada (≈ 1). Es debido a que beamformer presupone que corrientes pertenecientes a fuentes distintas son independientes cancelándose entre sí. Pero en general esta situación pierde relevancia para correlaciones moderadas⁵³. Otra posible fuente de error estriba en la estimación de la matriz de covarianza. Si las señales MEG en sensores no son lo suficientemente largas, son ruidosas, o se ha empleado el filtrado SSS en el preprocesado de los datos, es necesario realizar una regularización debido a que la matriz de covarianza estará mal-condicionada. Para determinar cuándo es necesario aplicar la regularización, se puede recurrir al número de condicionamiento, calculado mediante el cociente entre el mayor y el menor autovalor de la matriz \mathbf{C} . Si el valor es mayor que 106, entonces se recomienda usar regularización. Dicha regularización se suele llevar a cabo mediante la sustitución en la ecuación [2.32]³²¹:

$$\mathbf{C}^{-1} = [\mathbf{C} + \lambda \mathbf{I}]^{-1} \quad [2.33]$$

donde λ es el factor de regularización y suele ser un número positivo pequeño, ya que un valor mayor del factor conllevará una pérdida de resolución espacial³²⁰.

Metodología seguida en los estudios experimentales

Para analizar la actividad cerebral en el espacio de las fuentes generadoras se ha empleado un proceso consistente básicamente en 8 pasos, expuestos en la (Figura 2.3) y realizados mediante el toolbox Fieldtrip³¹². El primer paso consistió en la creación de dos mallados (grids) regulares con un espaciamiento de 1 y 2 cm entre nodos en el espacio del template MNI (Figura 2.3, A). Para ello, se segmentó la resonancia T1 del template MNI y tras ello se calculó el volumen de conducción con el modelo Single Shell de Nolte³¹⁷. La segmentación se llevó a cabo mediante el toolbox SPM8³²². Una vez calculado el volumen, se superpusieron los mallados y se seleccionaron los nodos que quedaban dentro del volumen incluyendo también aquellos situados en el exterior del volumen pero que no distasen al mismo más de 1 cm. Esos nodos eran las posiciones de los dipolos de corriente que conformaron el modelo de fuentes de todos los trabajos de esta tesis. En los apartados 3.1 y 3.2 se ha empleado el grid de 2 cm y en los apartados 3.3 y 3.4 se ha utilizado el de 1 cm. El segundo paso fue la realineación de la resonancia del sujeto y de su registro MEG (Figura 2.3, B). Para esto se generó una imagen de la piel con la MRI y se alineó con el modelo tridimensional digitalizado en el registro MEG, el *headshape*. El tercer paso requirió la segmentación de la resonancia de cada sujeto (Figura 2.3, C) y el cálculo del correspondiente volumen de conducción (Figura 2.3, D) de la misma forma que se había hecho con la resonancia del template MNI. A continuación, se calculó la transformación del espacio sujeto al espacio template mediante la normalización de la resonancia del sujeto a la de MNI. Entonces, se aplicó la transformación inversa sobre el grid construido en el espacio template de forma que se obtuvo un grid, que no tenía que ser necesariamente regular, en el espacio sujeto. De esta forma cada nodo en el espacio sujeto tenía su correspondencia en el espacio template (Figura 2.3, E). El siguiente paso consistió en la comprobación del modelo de cabeza, o *headmodel*, para cada sujeto con el objetivo de asegurarse del correcto realineado MEG-MRI y del volumen de conducción (Figura 2.3, F). Una vez se tuvo el modelo de la cabeza de cada sujeto se procedió a resolver el problema directo (Figura 2.3, G) mediante el cálculo del *leadfield*³¹⁷. En este punto ya fue posible abordar la resolución del problema inverso (Figura 2.3, H) mediante beamformer (LCMV)⁵³. Específicamente, se obtuvo un único filtro espacial del beamformer a partir de la matriz de covarianza calculada con todos los trials, y posteriormente dicho filtro fue aplicado en cada trial. El último paso conllevó la reconstrucción de las dinámicas temporales para cada dipolo (Figura 2.3, I).

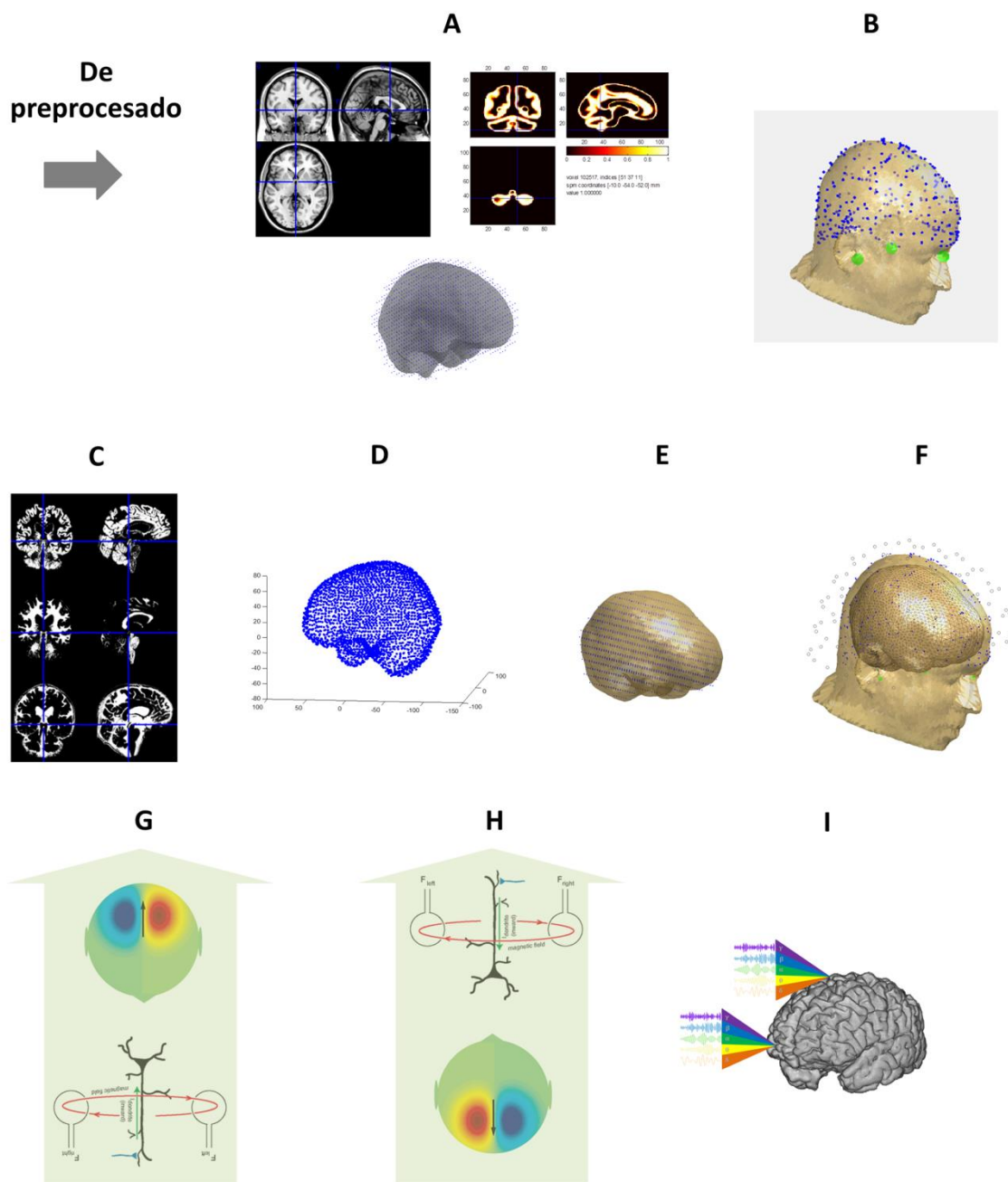


Figura 2.3. Metodología seguida para la obtención de las fuentes generadoras. **A.** Segmentación y cálculo del volumen de conducción para el template MNI. Definición del grid con un espaciado de 1 o 2 cm. **B.** Realineación para cada sujeto MEG-MRI. **C.** Segmentación de la MRI de cada sujeto, de arriba abajo; materia gris, materia blanca, líquido cefalorraquídeo. **D.** Cálculo del volumen de conducción para cada sujeto. **E.** Cálculo de la transformación del espacio sujeto al espacio estándar. Aplicación de la transformación inversa al grid creado en A para tener su correspondencia en el espacio sujeto. **F.** Comprobación del modelo incluyendo MRI, volumen de conducción, fiducials, headshape y sensores MEG. **G.** Solución del problema directo, cálculo del leadfield. **H.** Solución del problema inverso mediante beamformer LCMV. **I.** Obtención de las corrientes de las fuentes generadoras en las bandas correspondientes.

2.3.2 Metodologías

Análisis cuasi-estático: caracterización espectral

El análisis de la distribución espectral de potencia es una de las herramientas más empleadas en los estudios de electrofisiología. La base fundamental es la asunción de que toda oscilación puede ser descompuesta en una suma de ondas sinusoidales con distintas frecuencias y amplitudes. En consecuencia es posible estimar la contribución de varias frecuencias a la actividad electromagnética registrada.

En particular, la estimación de la potencia contenida en cada banda frecuencial de una señal MEG se hace a partir de la densidad espectral de potencia (DEP) de ésta. No obstante, no es posible calcular la DEP de una señal fisiológica, puesto que nuestro conocimiento sobre la misma es limitado. En lugar de esto, se estima esta DEP a través del cálculo de la DEP de versiones modificadas de la señal, que suponemos representativas de ella. En este trabajo el conjunto de versiones modificadas de la señal se ha obtenido empleando el método de enventanado por multi-tapering³²³. Este algoritmo multiplica la señal por una base de ventanas ortogonales, denominadas tapers, obteniendo tantas versiones de la señal original como ventanas se utilicen. Dado que las ventanas son ortogonales, también lo son las versiones enventanadas de la señal, por lo que se pueden considerar observaciones independientes de la señal MEG estimada.

Como se ha dicho, el conocimiento acerca de la señal MEG es limitado e insuficiente, debido a que únicamente se dispone de un segmento de la señal original. No obstante, es posible emplear cada versión enventanada de la señal como un segmento independiente, lo que aumenta el conocimiento de la señal, reduciendo el error por un factor igual al número de ventanas usadas. Con este método, la DEP de la señal original se estima mediante el promedio de las DEP de cada una de las versiones enventanadas obtenidas mediante la transformada discreta de Fourier³²⁴. No obstante, existe un precio que se paga en forma de pérdida de resolución espectral, de forma que ésta se ve reducida en un factor proporcional al número de ventanas empleadas. No obstante, a efectos prácticos esta pérdida de resolución espectral resulta beneficiosa, puesto que suaviza el espectro obtenido con la DEP, facilitando la comparación entre sujetos (Figura 2.4, A).

En los estudios realizados de caracterización espectral la potencia se calculó mediante el toolbox Fieldtrip³¹², aplicando el método denominado *mtmfft* (*multitaper frequency transformation*), que emplea tapers del tipo *dpss* (*discrete prolate spheroidal sequences*). La potencia fue calculada para el rango 1.5-45Hz en pasos de 0.5 Hz en el caso de los registros MEG españoles, y para el rango 1.5-55Hz en pasos de 0.5Hz para los registros japoneses.

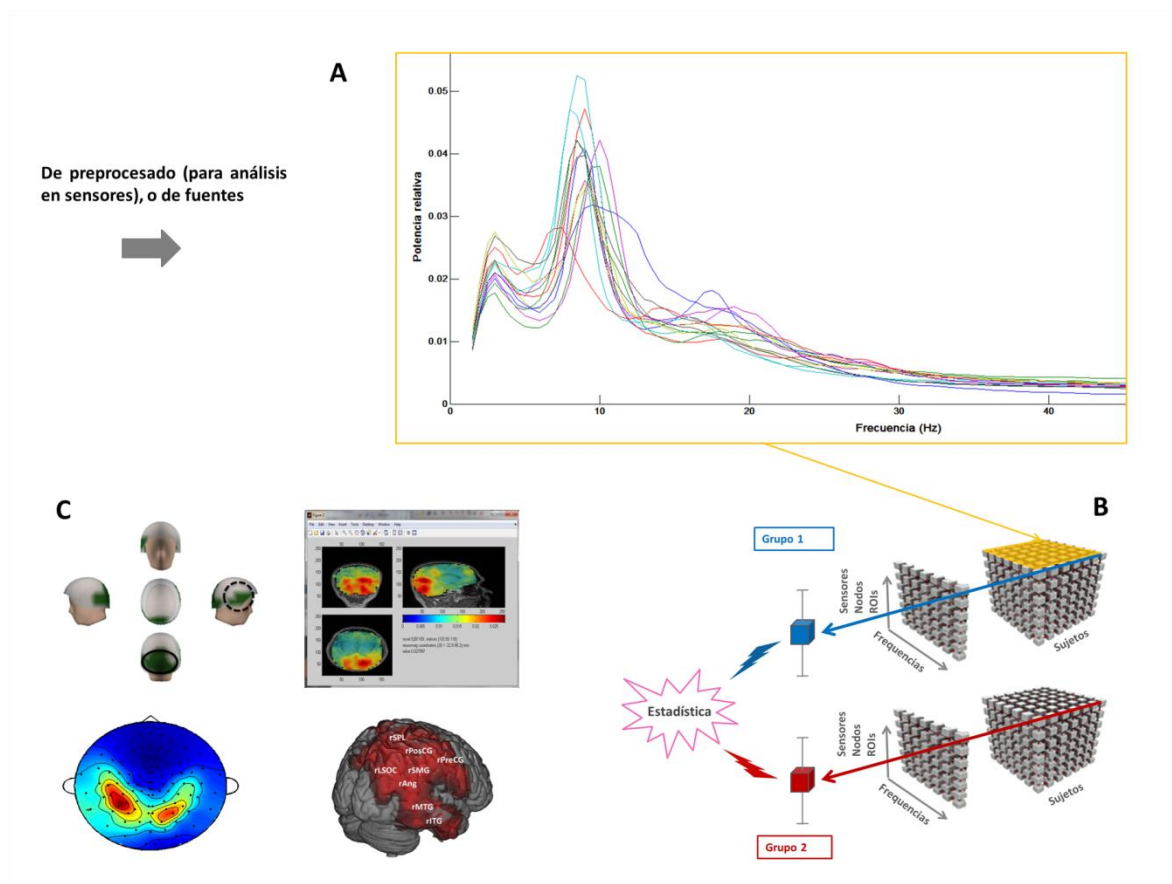


Figura 2.4. Análisis de potencia. Este esquema retoma el trabajo donde lo dejó la Figura 2.1 o la Figura 2.3 dependiendo de si se va a analizar la potencia en sensores o en fuentes respectivamente. **A.** Espectros normalizados para todos los sujetos de un grupo. **B.** Comparación estadística entre los valores de potencia en cada sensor/nodo/ROI en cada paso de frecuencia. La cubierta amarilla simboliza la misma cantidad de datos mostrada en el gráfico encuadrado en el mismo color. **C.** Resultados de potencia en fuentes (derecha) y en sensores (izquierda).

Análisis dinámico: sincronización y conectividad funcional

El fenómeno de la sincronización es conocido desde hace más de 300 años³²⁵ cuando un matemático holandés convaleciente se percató de que los péndulos de dos relojes de su habitación estaba acoplados en antifase y que incluso persistían en ello después de haber sido perturbados. Etimológicamente la palabra sincronización significa “que acontece al mismo tiempo”, pero precisamente ahí estriba una de las mayores dificultades del problema, diferenciar causalidad de casualidad. Varias cosas que ocurren al mismo tiempo parecen guardar una cierta relación pero no ha de ser así necesariamente (e. g. *Post hoc ergo propter hoc*).

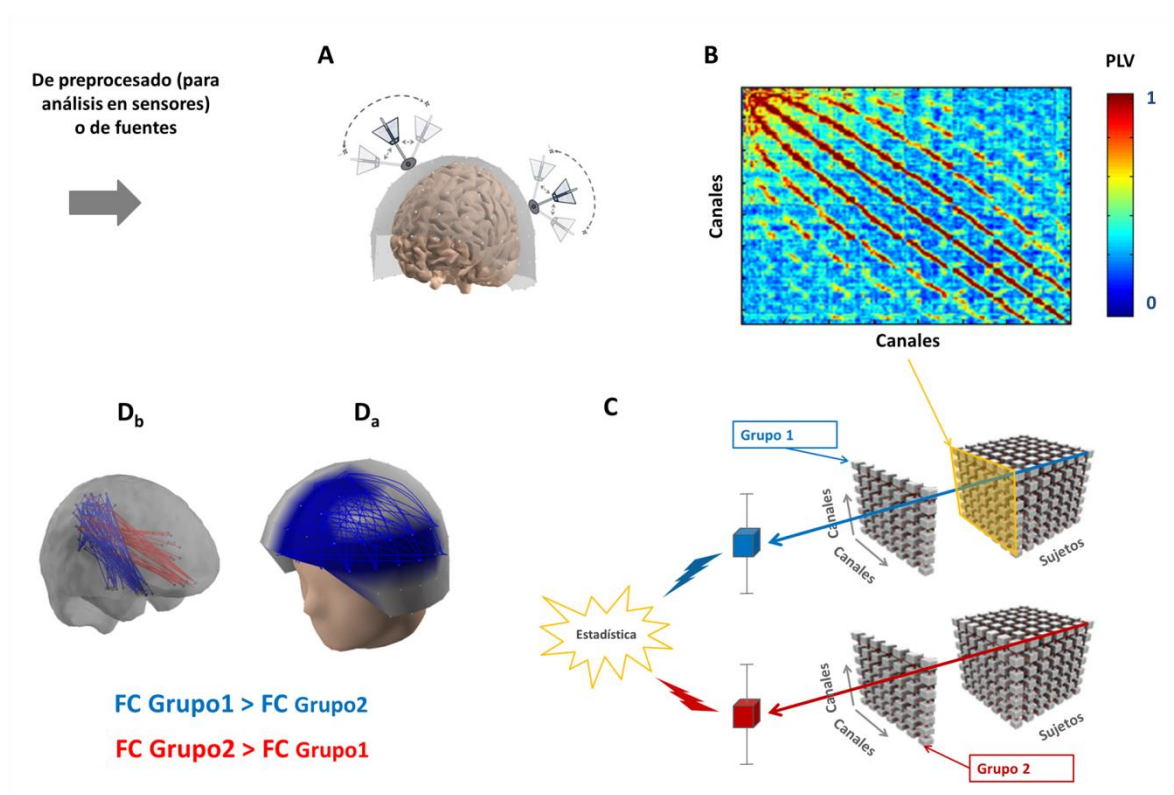


Figura 2.5. Análisis de conectividad funcional. Este esquema retoma el trabajo donde lo dejó la Figura 2.1 o la Figura 2.3 dependiendo de si se va a analizar la FC en sensores o en fuentes respectivamente. **A.** El primer paso es el cálculo de la sincronización de fase mediante el PLV. **B.** Ejemplo de una matriz de conectividad. Canales puede referirse a sensores, nodos o ROIs en función del marco de trabajo (Figura 2.2). En este caso la matriz es simétrica porque el PLV no ofrece información sobre la dirección del acoplamiento. **C.** Comparación estadística de los valores de conectividad para cada link entre dos grupos. El panel frontal amarillo muestra la localización de la matriz de conectividad de un sujeto dado en la estructura de datos. Este proceso se lleva a cabo para cada banda de frecuencia. **D_a.** Resultados en el espacio de sensores. **D_b.** Resultados en el espacio de fuentes. En la parte inferior, la leyenda ofrece información sobre qué grupo posee un valor medio de conectividad más alto en función del color de cada link.

El cerebro humano está compuesto por un entramado de incontables células, no sólo neuronas, que se comunican entre sí a través de miles de procesos entre los que la sinapsis se asume como el principal pero que no es el único. A un nivel menos microscópico, las neuronas parecen agruparse formando clústeres que interaccionan entre sí dinámicamente, en diferentes niveles espaciales y temporales. Dichos clústeres, han sido postulados como el sustrato neurofisiológico de la cognición^{51,326}, y mantienen un equilibrio dinámico entre la participación en procesos de integración, en los que trabajan en común, con la implicación en procesos de segregación en los que adquieren un rol principal en alguna función específica. Por ejemplo, hay regiones del cerebro con funciones muy precisas, como el lenguaje o la corteza visual, pero que sin embargo intervienen al mismo tiempo en innumerables procesos y que mantienen un contacto constante con regiones que distan de ellas. Más aun, hay regiones denominadas hubs que parecen ser verdaderas centralitas, que intervienen de una forma u otra en casi cualquier

actividad cerebral. De ellos quizás el más relevante sea el precuneus, el *hub* principal de la DMN. Este hecho resulta hoy día de vital importancia ya que se está empezando a evidenciar que los *hubs* parecen ser susceptibles a una vulnerabilidad selectiva ante la neuropatología asociada a la EA^{42,327}. Es evidente, por tanto, la necesidad del estudio y caracterización de los patrones dinámicos de la actividad cerebral y en ello el papel de la MEG y de la teoría de Sistemas no lineales es fundamental³²⁸.

Desde un punto de vista físico, la sincronización puede definirse como el acoplamiento dinámico de diferentes ritmos de oscilación. Por ello su aplicación a la neurociencia ha supuesto un cambio de paradigma sin precedentes desde los hallazgos de Cajal. Para describir cómo se coordina la actividad del cerebro entre diferentes regiones, se acuñó el concepto conectividad funcional (FC)^{51,261,329}. La FC se define como la correlación temporal entre eventos neurofisiológicos producidos en áreas espacialmente distantes; se mide a partir de la dependencia estadística entre dos señales dadas sin dar información de la dirección del acoplamiento, es decir, es una medida simétrica. Es un concepto distinto del de conectividad efectiva (EC) que es una medida asimétrica debido a que es capaz de medir la direccionalidad del acoplamiento, lo que implica extrapolar cierta causalidad entre las actividades oscilatorias de las señales. En electrofisiología se tiene en general un conjunto de señales cuyo número específico depende de la técnica y metodologías empleadas. Cuando se trabaja en el espacio de sensores el número de señales oscila entre las 32 de un EEG estándar a las 102 del sistema MEG Elekta, 306 si se incluyen también los gradiómetros. Con el paso al espacio de fuentes generadores esta cantidad se incrementa notablemente alcanzando unas cifras de varios miles. En los estudios realizados en este trabajo el número concreto de señales correspondientes a fuentes generadoras fue 2455 o 320 en función de si se empleó un grid de 1 o 2 cm respectivamente. Estableciendo el caso general como un sistema X_i donde $i = 1:N$, siendo N el número de señales, para dos señales dadas X_j y X_k se pueden definir tres tipos de sincronización³³⁰:

- i. Sincronización idéntica o completa. Tiene lugar cuando dos sistemas idénticos están fuertemente acoplados, de forma que el estado de un sistema converge de manera asintótica al estado del otro sistema. Por ejemplo, dos medidas de una misma variable contaminadas con ruidos distintos. Se ha de cumplir:

$$\lim_{t \rightarrow \infty} [X_j(t) - X_k(t)] = 0 \quad [2.34]$$

- ii. Sincronización generalizada. En este caso la convergencia entre dos sistemas, en general diferentes, se produce a través de una transformación F distinta de la identidad. En este caso la causalidad se basa en la probabilidad de que cuando en un sistema ocurra algo en otro ocurra otra cosa; carece de importancia el qué, sólo importa que acontezca. Dos sistemas con sincronización general cumplen:

$$\lim_{t \rightarrow \infty} \|X_j(t) - F(X_j(t))\| = 0 \quad [2.35]$$

siendo en este caso $X_k = F(X_j(t))$.

- iii. Sincronización en fase. En este caso el nombre es bastante descriptivo ya que tiene lugar cuando las fases de dos sistemas oscilatorios acoplados se sincronizan, sin tener por qué estar sincronizadas sus amplitudes, y de forma que la diferencia de sus fases, denotadas como φ_i , está limitada por una constante (C). Por ejemplo dos relojes que marcan horas distintas pero que entre sí mantienen una diferencia constante. El caso general es:

$$\varphi_{jk}(t) = |\varphi_j(t) - \varphi_k(t)| \leq cte \quad [2.36]$$

En este trabajo, las medidas de FC, dada la naturaleza oscilatoria de la señales electromagnéticas cerebrales, han sido realizadas mediante la aplicación del método de sincronización de fase *Phase Locking Value* (PLV)⁺³³¹. Previamente al cálculo del PLV es necesario filtrar las señales en bandas de frecuencia de forma que la extracción de la fase tenga sentido físico. Para comprobar la existencia de una oscilación dominante en la banda se puede calcular el espectro de potencia y comprobar la existencia de un pico. Este es el motivo por el que la utilización de las medidas de sincronización de fase en bandas anchas, como gamma, es objeto de debate en la literatura aunque ha sido utilizado al menos para frecuencias hasta 100Hz^{332,333}. El proceso de filtrado ha sido explicado en el apartado 2.2. A continuación se detalla la metodología empleada para su cálculo³³⁴.

Para cada señal neurofisiológica $X_j(t)$, el primer paso consiste en el cálculo de su señal analítica correspondiente:

$$Z_j(t) = X_j(t) + i \cdot H(X_j(t)) = A_j(t)e^{i\varphi_j t} \quad [2.37]$$

donde $H(X_j(t))$ representa la transformada de Hilbert. Dicha transformada se obtiene mediante:

$$H(X_j(t)) = \frac{1}{\pi} P.V. \int_{-\infty}^{\infty} \frac{X_j(\tau)}{t - \tau} d\tau \quad [2.38]$$

siendo P.V. el valor principal de Cauchy. De esta forma la amplitud y fase instantánea se pueden expresar como:

⁺ EL PLV también es denominado *Mean Phase Coherence* cuando se aplica en datos continuos en lugar de con datos obtenidos de respuestas evocadas³³³.

$$A_{X_j}(t) = \sqrt{H(X_j(t))^2 + X_j(t)^2} \quad [2.39]$$

$$\varphi_{X_j}(t) = \arctg \frac{H(X_j(t))}{X_j(t)}$$

Por último, para el cálculo del PLV es necesario emplear el concepto de fase relativa:

$$\varphi_r(t) = \varphi_{jk}(t) \bmod 2\pi \quad [2.40]$$

y de ese modo el PLV queda definido como:

$$PLV = |\langle e^{i\varphi_r(t)} \rangle_t| = \left| \frac{1}{N} \sum_{m=1}^M e^{i\varphi_r(t_m)} \right| = \sqrt{\langle \cos \varphi_r(t) \rangle_t^2 + \langle \sin \varphi_r(t) \rangle_t^2} \quad [2.41]$$

donde M es el número total de pasos de tiempo, que en el caso del presente estudio es 4000. El rango de valores es: $0 \leq PLV \leq 1$, donde 0 implica que los sistemas no están sincronizados y 1 una sincronización total (la diferencia de fase es constante).

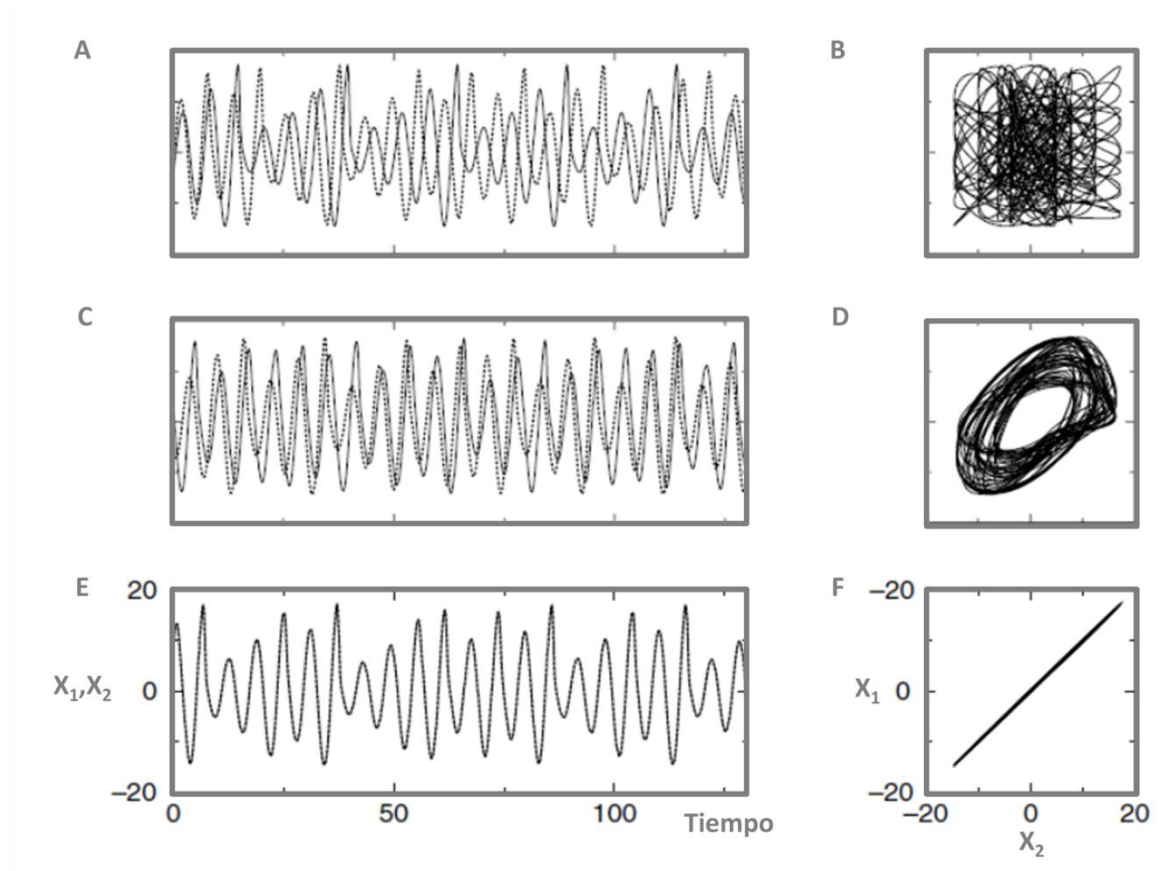


Figura 2.6. Ejemplos de tipos de sincronización. Se muestran dos señales originadas mediante los atractores de Rössler no idénticos con diferentes grados de acoplamiento: no acoplado (AB), acoplado en fase (CD), completamente acoplado (EF). A la izquierda se muestra la fase y a la derecha la amplitud. Modificada de³³⁰.

Análisis estructural: MRI y PET

Adquisición de la Imagen de MRI

Las imágenes de MRI de los sujetos fueron obtenidas con dos escáneres. El primero situado en el laboratorio Japonés fue un modelo Trio de 3T de la compañía Siemens. El segundo, situado en Madrid, era un sistema General Electric de 1.5T. El protocolo de adquisición consistió en el registro de imágenes T1, FLAIR (*fluid attenuated inversion recovery*) y DTI.

Análisis del volumen de MRI

Las imágenes de MRI fueron procesadas con el software Freesurfer (versión 5.1.0) para obtener el volumen de distintas áreas cerebrales³³⁵. Los volúmenes fueron normalizados con respecto al volumen intracraneal total.

Adquisición de imágenes PiB PET

El sistema PET, ubicado en el laboratorio japonés, es un sistema CT PET Siemens Biograph True V. La imagen 3D se registró entre 50 y 70 minutos después de la inyección intravenosa del radiotrazador. La tomografía computarizada para la corrección de atenuación fue llevada a cabo antes de la imagen PET.

Evaluación visual de la imagen PiB PET

Las imágenes PiB-PET fueron evaluadas visualmente por expertos en base al procedimiento descrito por Rabinovici et al.³³⁶. Dicha evaluación consistió en la revisión visual de las imágenes por dos expertos que desconocían la información clínica de los sujetos. Las imágenes PiB-PET fueron clasificadas como *PiB-positivo* (PiB+) o *PiB-negativo* (PiB-) por cada experto de manera que únicamente se han incluido sujetos en los que el criterio de ambos coincidía al 100%.

Análisis del PiB PET

Las imágenes PiB-PET fueron normalizadas al template MNI con los parámetros obtenidos de cada imagen T1 de la MRI previamente co-registrada con las imágenes PiB-PET. A las imágenes PiB-PET se les sobrepuso una máscara con la sustancia gris extraída de la segmentación de la imagen T1 con el objetivo de excluir la materia blanca y las regiones externas al cerebro. Los valores de acumulación de A β de cada ROI fueron obtenidos mediante la utilización del atlas Harvard-Oxford⁵⁴. Posteriormente los valores de cada ROI fueron normalizados respecto a la concentración de A β del cerebelo obteniendo el valor SUVR (*standardized uptake value ratio*). De la misma forma se obtuvo el valor mcSUVR (mean cortical SUVR) para cada sujeto mediante el promedio de todos los valores SUVR de la corteza cerebral.

Determinación genotipo APOE

El ADN genómico se extrajo de las muestras de sangre tomadas tanto de los sujetos control como de los pacientes con DCL. El halotipo APOE fue determinado mediante el análisis de los genotipos SNPs rs7412 y rs429358. Ello se realizó mediante un sistema PCR Applied Biosystems 7900 HT. En cada placa, se empleó una tasa de genotipado de más del 90% en la que se incluyeron controles para cada genotipo y controles negativos¹⁵.

2.4 Evaluación Estadística de los resultados

Inferencia Estadística

Para evaluar las diferencias en los valores de potencia y conectividad funcional que se estudian en cada trabajo se han empleado diversas metodologías estadísticas en función de si las muestras seguían una distribución normal o no, o de si se comparaban varios grupos o varios factores. En el cuadro siguiente se esquematizan los contrastes estadísticos que se han de usar en función del tipo de muestra y de la comparación a evaluar. En el caso de los estudios de esta tesis siempre se compararon poblaciones no pareadas. Además de los contrastes marcados en negrita en la Tabla 2.1, En los estudios 3.1 y 3.2 se emplearon test ANOVA con dos factores, y en los estudios 3.3 y 3.4 se utilizaron análisis ANCOVA con la edad como covariable. Para una descripción detallada de cada contraste se recomienda consultar³³⁷.

Objetivo	Datos		
	Binomial o discreto	Medida continua (en una distribución normal)	Medida continua, rango o puntuación (de una distribución no normal)
Ejemplo de muestra de datos	Lista de pacientes que se recuperan o no después de un tratamiento	Registros de la presión cardiaca de varios pacientes	Clasificación de un experto de la eficiencia de distintos tratamientos
Descripción de los datos de una muestra	proporciones	Media, desviación típica	Mediana
Comparación de los datos de una muestra con una distribución hipotética	Prueba X^2 o binomial	Prueba de t para una muestra	Prueba Wilcoxon
Comparación de dos muestras pareadas	Prueba del signo	Prueba de t pareada	Prueba Wilcoxon
Comparación de dos muestras no pareadas	Prueba exacta de Fisher	Prueba de t no pareada	Prueba Mann-Whitney
Comparación de tres o más muestras no emparejadas	Prueba de X^2	ANOVA de un factor	Prueba Kruskal-Wallis
Comparación de tres o más muestras emparejadas	Prueba Q de Cochran	ANOVA de medidas repetidas	Prueba Friedman
Cuantificación de la asociación entre dos muestras pareadas	Coefficientes de contingencia	Correlación Pearson	Correlación Spearman

Tabla 2.1. Esquema de utilización de test de inferencia estadística en función del tipo de datos. Modificada de³³⁸

En aquellas ocasiones en que se usaron test paramétricos se realizó una transformación de los datos con el objetivo de asegurar que seguían una distribución normal. Para ello se empleó la fórmula siguiente³³⁹:

$$x = \log(x/1 - x) \quad [2.42]$$

Tamaño del efecto

El tamaño del efecto es un complemento al contraste de medias que está adquiriendo cierta importancia día a día ante las dudas que suscita ceñirse únicamente a la famosa regla de $p < 0.05$ ³⁴⁰. El motivo es que una diferencia estadísticamente significativa no ha de implicar necesariamente una diferencia grande entre las medias de las poblaciones. Para complementar los resultados de los contrastes se puede emplear el tamaño del efecto. Siendo X_{Obj} el conjunto de medidas pertenecientes a los sujetos de la muestra objetivo y X_{Ref} el perteneciente a la muestra de referencia la expresión para calcularlo es la siguiente³⁴¹:

$$\Delta = \frac{\langle X_{Obj} \rangle - \langle X_{Ref} \rangle}{\sigma_{Ref}} \quad [2.43]$$

donde σ_{Ref} es la desviación típica de la muestra referencia y los brackets indican promedio a lo largo de la muestra.

Corrección de valores significativos

Para realizar correcciones sobre los valores significativos se han llevado a cabo una serie de pruebas estadísticas basadas en test de permutaciones³⁴². El modelo más sencillo es repetir el test estadístico, o la medida de correlación tras haber reordenado la asignación de los sujetos a los grupos de manera aleatoria. Este proceso se repite miles de veces generando un *surrogate-map* en el que se almacenan los resultados estadísticos de cada composición aleatoria de grupos. De esta forma, partiendo de la hipótesis nula que establece la no existencia de diferencias entre grupos, nos quedamos con el 5% de las comparaciones con un menor valor de p. El último paso es comprobar que la p resultante de la comparación con la configuración original de grupos se halle incluida dentro de ese 5%.

Test de permutaciones no-paramétrico basado en clústeres.

Para corregir los valores de potencia y conectividad en los resultados finales se llevó a cabo un *cluster based permutation test* basado en el método publicado por Maris et Al en 2007³⁴³. El test de permutaciones per se es muy similar al expuesto anteriormente pero ahora se tienen en cuenta varios factores basados en información adicional que contribuyen a agrupar los resultados en estructuras interrelacionadas. El proceso seguido consiste en los siguientes pasos: 1) se lleva a cabo un test estadístico exploratorio para todas las comparaciones que se quieran estudiar; 2) se agrupan los resultados significativos en función de criterios de adyacencia temporal, espacial o funcional. Estos valores agrupados conformarán un clúster y serán analizados como tal; 3) el último paso

es la realización de un test de permutaciones en el que de nuevo se reorganiza aleatoriamente la asignación de los sujetos a los grupos. Sin embargo, en este caso la estadística se aplica a nivel de clúster, de forma que el valor utilizado en los *surrogate-maps* es la suma de los estadísticos realizados en todas las comparaciones que componen el clúster. Por ejemplo, si un clúster está conformado por 27 links, el valor del estadístico empleado en el test de permutaciones será la suma de los 27 valores estadísticos obtenidos de las comparaciones entre los grupos. Sólo se tendrán en cuenta aquellos clústeres que muestren un estadístico comprendido en el 5% mayor de todos los contenidos en el *surrogate-map*.

3- Resultados

3.1- Análisis en el espacio de fuentes de la actividad espontánea medida con MEG en envejecimiento sano y deterioro cognitivo leve. Influencia del alelo APOE- ϵ 4.

3.1.1 Objetivos e Hipótesis

El objetivo principal de este estudio fue investigar la influencia del alelo APOE- ϵ 4 en la actividad espontánea cerebral en reposo de ancianos sanos y ancianos con DLC. El estudio se centró en la tenencia o no, de un único alelo APOE- ϵ 4 de forma que los posibles efectos perniciosos asociados a ser portador pudieran ser más relevantes a nivel poblacional, ya que el porcentaje de población con un único alelo es mucho mayor que con 2 (Figura 1.13).

La hipótesis principal consistió en la aparición de un patrón de enlentecimiento en los sujetos con genotipo de APOE 34 en comparación con los sujetos con genotipo de APOE 33. Dicho patrón consistiría en un incremento de la potencia en frecuencias bajas (rango delta y teta), acompañado de un decremento de la potencia en frecuencias altas, particularmente dentro del rango de la banda alfa. Estas diferencias deberían poder encontrarse en las comparaciones intra-diagnóstico de forma que fuera posible apreciar diferencias entre sujetos con un mismo nivel de deterioro cognitivo, o de ausencia del mismo.

Además, se esperaba que ambos grupos de DCL mostrasen dicho enlentecimiento cuando se comparasen con los grupos control, de forma que se pudiera asegurar que el enlentecimiento per se no dependía de la tenencia o no del alelo APOE- ϵ 4, sino que éste actuaba aumentando la vulnerabilidad de los sujetos portadores ante la aparición de alteraciones en la actividad cerebral.

3.1.2 Métodos

Características de la población

La muestra del presente estudio consistió en 61 nativos españoles diestros (25 controles y 36 pacientes con DCL). Los pacientes con DCL fueron reclutados de la *Unidad de Geriatria y Neurología del Hospital Universitario San Carlos* y del *Centro de prevención para el deterioro de memoria*, ambos en Madrid, España. Los voluntarios sanos fueron reclutados del *Centro de mayores del distrito de Chamartín*, también en Madrid. Las características demográficas pueden hallarse en la Tabla 3.1.

El criterio diagnóstico para los sujetos con DCL fue realizado conforme a los nuevos criterios diagnósticos de 2011⁶ (Figura 1.16). Consecuentemente, en esta muestra todos los sujetos con DCL fueron diagnosticados como *DCL debido a EA con certeza intermedia* debido a que mostraron un marcador de neurodegeneración positivo (atrofia hipocampal).

	CN 33	CN 34	DCL 33	DCL 34
n	19	6	20	16
Edad	70±4	69±4	72±5	72±3
Ratio sexo [H/M]	7/12	4/2	8/12	8/8
Puntuación MMSE	29.4±0.7	29.6±0.5	27.4±2.4	27.4±3.0
Nivel educativo	3.7 ± 1.3	3.9 ± 0.9	3.3 ± 1.2	3.0 ± 1.1
RHV	0.0025 ± 0.0003	0.0025 ± 0.0003	0.0022 ± 0.0005	0.0021 ± 0.0005
LHV	0.0025 ± 0.0004	0.0026 ± 0.0004	0.0022 ± 0.0005	0.0021 ± 0.0005
nTrials	31 ± 6	31 ± 7	30 ± 8	32 ± 6

Tabla 3.1.Descripción demográfica. DCL, deterioro cognitivo leve. CN, control. 33 o 34, genotipo APOE 33 o 34respectivamente. H, hombres; M, mujeres; MMSE test mini-mental; n trials, número de segmentos limpios de 4 segundos empleados en el análisis. El RHV (volumen hipocampal derecho) y el LHV (volumen hipocampal izquierdo) fueron normalizados con el volumen intracraneal total. El nivel educacional fue agrupada en 5 niveles: 1) analfabeto, 2) estudios primarios, 3) estudios elementales, 4) estudios medios, y 5) estudios universitarios. nTrials, número medio de segmentos de señal MEG de 4 segundos incluidos en el estudio.

Todos los participantes fueron evaluados mediante instrumentos de diagnóstico estandarizados que incluyeron: la versión española del Mini Mental State Examination (MMSE)⁸¹, la Escala de Deterioro Global⁸⁷ y de evaluación funcional (FAST)³⁴⁴ y (FAQ)³⁴⁵, la escala de depresión geriátrica de Yesavage⁸⁸, la valoración Isquémica de Hachinski³⁴⁶ y el cuestionario instrumental sobre las actividades de la vida diaria³⁴⁷. Ningún sujeto de este estudio se hallaba tomando medicación que pudiera afectar a la actividad MEG, incluyendo los inhibidores de colinesterasa. Además tampoco estaban diagnosticados de otras enfermedades neurológicas o psiquiátricas, con excepción del diagnóstico de DCL.

Todos los sujetos realizaron un exhaustivo estudio neuropsicológico con el fin de establecer el nivel cognitivo en diferentes dominios funcionales. La información sobre los test neuropsicológicos puede consultarse en el apartado 1.1.3. De acuerdo con sus perfiles clínicos y neuropsicológicos, todos los pacientes con DCL cumplían los criterios para el subtipo amnésico de un solo dominio ya que solamente mostraron problemas de memoria¹⁸⁹. Antes de los registros MEG, todos los sujetos firmaron un consentimiento informado donde se les explicaban todas las consideraciones tecnológicas y éticas de la investigación. El estudio fue aprobado por el Comité Ético Local.

Por último todos los sujetos llevaron a cabo los registros MEG (3 minutos de actividad basal con ojos cerrados), MRI (T1, Flair) y se sometieron a análisis de sangre para la

obtención de su perfil genético. La información sobre las características de estas pruebas se encuentra detallada en el apartado 2-.

Particularidades metodológicas

Las señales MEG fueron preprocesadas como se ha indicado en la sección 2.2 y se muestra en (Figura 2.1). Además, el análisis de potencia ha sido esquematizado en la (Figura 2.4). La potencia en el grid de 302 nodos (ver apartados 2.3.1 y 2.3.2) fue normalizada en el intervalo 1.5-30Hz. Con el objeto de reducir la información e introducir información anatómica se recurrió al atlas Harvard-Oxford⁵⁴. En este estudio se seleccionaron 30 ROIs que incluían regiones involucradas en la actividad basal y que habían sido descritas como poseedoras de una cierta vulnerabilidad ante la acumulación de placas de amiloide^{18,257,274,327,348}. En la Tabla 3.2 se describen los ROIs incluidos en este estudio. La potencia se promedió en dichos ROIs, partiendo de unos datos cuyas dimensiones eran 30 (ROIs) x 58 (pasos de frecuencia) x 61 (sujetos).

El procedimiento de análisis estadístico constó de varios pasos. El primero fue aplicar una transformación de los datos para asegurar que seguían una distribución normal mediante la ecuación [2.43]. A continuación se utilizó un ANOVA 2x2 con el diagnóstico y el genotipo de APOE como factores principales para la potencia en cada ROI y en cada paso de frecuencia. Los resultados significativos fueron agrupados siguiendo un criterio de adyacencia frecuencial (al menos habían de ser significativos durante 4 pasos de frecuencia, i.e. 2Hz) y espacial (los ROIs debían ser colindantes). Dichas agrupaciones, o clústeres fueron estudiados mediante test post-hoc consistentes en comparaciones por pares de grupos t-test. Estos valores fueron comprobados con el método no paramétrico basado en clústeres (ver apartado 2.4). Además, se calculó la potencia media en cada clúster y se analizaron sus posibles correlaciones, mediante el método de Pearson, con las medidas de neuropsicología y los volúmenes hipocampales. Las correlaciones significativas fueron comprobadas mediante un test de permutaciones (ver apartado 2.4). En todas las comparaciones que involucraron al grupo CN34 se aplicó un test extra consistente en escoger aleatoriamente 10 sujetos del grupo contra el que eran comparados. Este procedimiento se repitió 2000 veces y únicamente los resultados que eran significativos en al menos el 85% de las comparaciones fueron incluidos en los resultados. Por último, todos los resultados estadísticos fueron apoyados mediante la inclusión de los correspondientes tamaños de los efectos calculados con [2.43].

ROI	#Nodos	Coordenadas Centrales MNI [mm]	r max [mm]	r min [mm]
Polo Occipital [OP]	6	[0 -100 10]	22	10
Córtex Occipital Lateral Inferior Izquierdo [lLIOC]	3	[-47 -73 -7]	20	12
Córtex Occipital Lateral Inferior Derecho [rLIOC]	3	[47 -73 -7]	20	12
Córtex Occipital Lateral Superior Izquierdo [lLSOC]	7	[-29 -71 40]	25	13
Córtex Occipital Lateral Superior Izquierdo [rLSOC]	7	[29 -71 40]	25	13
Giro Angular Izquierdo [lAng]	3	[-47 -60 27]	15	10
Giro Angular Derecho [rAng]	3	[47 -60 27]	15	10
Giro Supramarginal Izquierdo [lSMG]	4	[-55 -35 35]	17	9
Giro Supramarginal derecho [rSMG]	4	[55 -35 35]	17	9
Giro Superior Temporal Izquierdo [lSTG]	3	[-60 -20 0]	20	0
Giro Superior Temporal Derecho [rSTG]	3	[60 -20 0]	20	0
Giro Precentral Izquierdo [lPreCG]	7	[-43 -9 46]	32	11
Giro Precentral Derecho [rPreCG]	7	[43 -9 46]	32	11
Giro Poscentral Izquierdo [lPosCG]	3	[-27 -40 67]	15	10
Giro Poscentral Derecho [rPosCG]	3	[27 -40 67]	15	10
Córtex Orbitofrontal Izquierdo [lFOC]	2	[-30 20 -20]	10	10
Córtex Orbitofrontal Derecho [rFOC]	2	[30 20 -20]	10	10
Polo Temporal Izquierdo [lTP]	2	[-40 10 -40]	10	10
Polo Temporal Derecho [rTP]	2	[40 10 -40]	10	10
Giro Temporal Inferior Izquierdo [lITG]	3	[-60 -40 -20]	20	0
Giro Temporal Inferior Derecho [rITG]	3	[60 -40 -20]	20	0
Córtex Cingulado Posterior [PCC]	3	[0 -33 33]	15	10
Córtex Cingulado Anterior [ACC]	5	[0 24 24]	29	6
Precuneus [Pc]	7	[0 -60 37]	30	3
Hipocampo Izquierdo [lHip]	2	[-20 -30 -10]	14	14
Hipocampo Derecho [rHip]	2	[20 -30 -10]	14	14
Giro Frontal Superior [SFG]	8	[0 23 53]	31	8
Córtex Prefrontal Izquierdo [lPFC]	8	[-30 50 -3]	27	14
Córtex Prefrontal Derecho [rPFC]	8	[30 50 -3]	27	14
Córtex Prefrontal Medial [mPFC]	4	[0 55 -5]	25	7

Tabla 3.2.Regiones de interés (ROIs). El nombre de los ROIs y el número de los nodos están en las dos primeras columnas. Las coordenadas centrales de los ROIs corresponden a las coordenadas promedio de todos los nodos dentro del correspondiente ROI. Los ratios máximos/mínimos muestran la distancia Euclídea entre cada nodo y la posición central de del ROI correspondiente.

3.1.3 Resultados

Efecto principal del diagnóstico

El grupo de DCL mostró un incremento significativo en el rango de frecuencias 6-9 Hz (Figura 3.1) en comparación con el grupo control en 29 de los 30 ROIs. Únicamente el giro frontal superior (SFG) no tuvo diferencias significativas en su valor de potencia relativa. En el rango alfa (10-14 Hz) tanto el córtex orbito-frontal derecho (rFOC) como el polo temporal izquierdo (ITP) mostraron un decremento significativo en la medida de potencia relativa en el grupo de DCL cuando se comparó con el grupo de controles sanos (Figura 3.2). Los valores de potencia en ambas regiones exhibieron un decremento progresivo en el que el grupo CN33 mostró los valores más altos y el grupo de DCL34 los valores más bajos. Finalmente, en el rango beta (19-22 Hz), el diagnóstico ejerció un efecto significativo en cuatro ROIs: el giro angular izquierdo (lAng), el córtex occipital lateral

inferior izquierdo (lLIOC), el córtex occipital lateral inferior derecho (rLIOC), y el polo occipital (OP). Todos ellos mostraron un decremento en la potencia relativa en el grupo de DCL al ser comparados con los controles sanos (Figura 3.3).

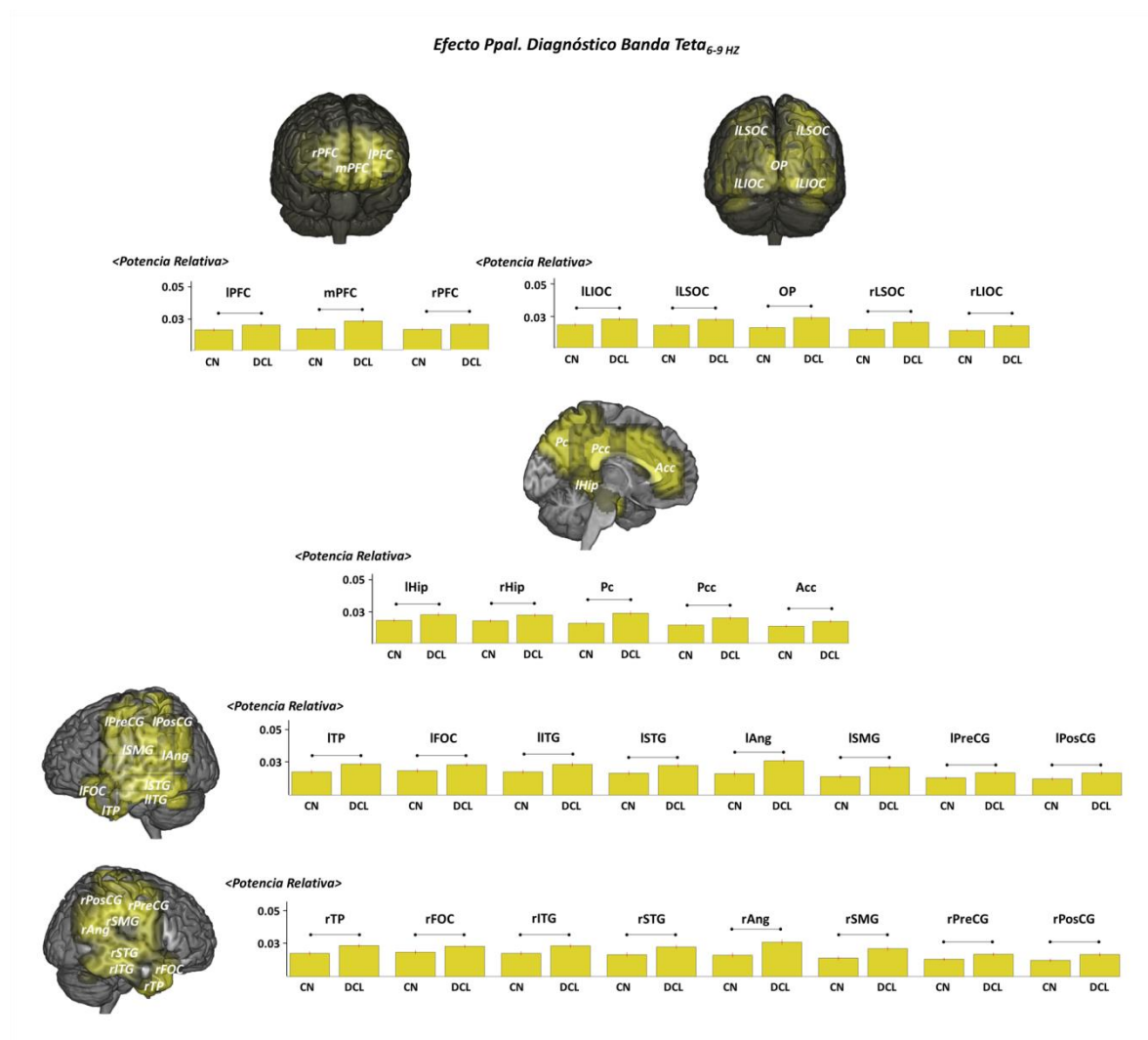


Figura 3.1. Efecto principal del diagnóstico en el rango 6-9 Hz. Los ROIs en amarillo muestran las diferencias significativas ($p < 0.05$) en los valores de potencia relativa entre pacientes con DCL y controles (CN). Las barras amarillas de los gráficos corresponden al promedio de la potencia relativa de los ROIs para cada grupo. La barra horizontal en la parte superior indica las diferencias significativas de la potencia ($p < 0.05$) debidas al efecto principal del diagnóstico y las comparaciones por pares del t-test entre grupos. El valor promedio del tamaño del efecto es 0.91 ± 0.17 (mínimo 0.69 y máximo 1.29).

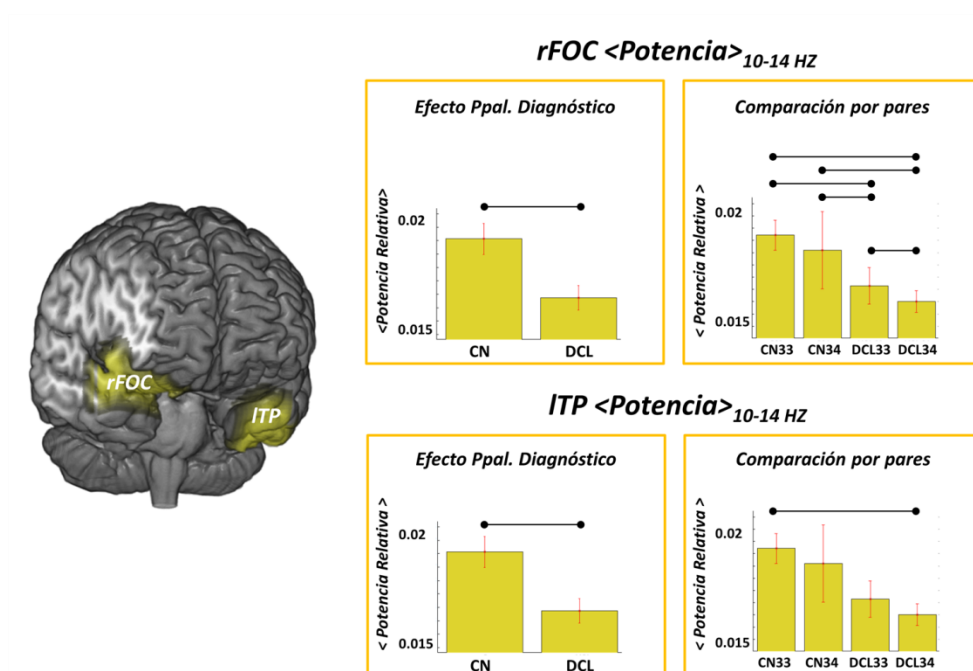


Figura 3.2. El efecto principal del diagnóstico en el rango de frecuencias 10-14 Hz. Los ROIs en amarillo muestran las diferencias significativas ($p < 0.05$) en potencia relativa entre el grupo control (CN) y el de pacientes con DCL. Las barras amarillas de los gráficos corresponden al promedio de la potencia relativa de los ROIs para cada grupo. Los valores del tamaño del efecto para la comparación de la potencia relativa entre CN y DCL en rFOC es -0.7, mientras que en ITP es -0.63.

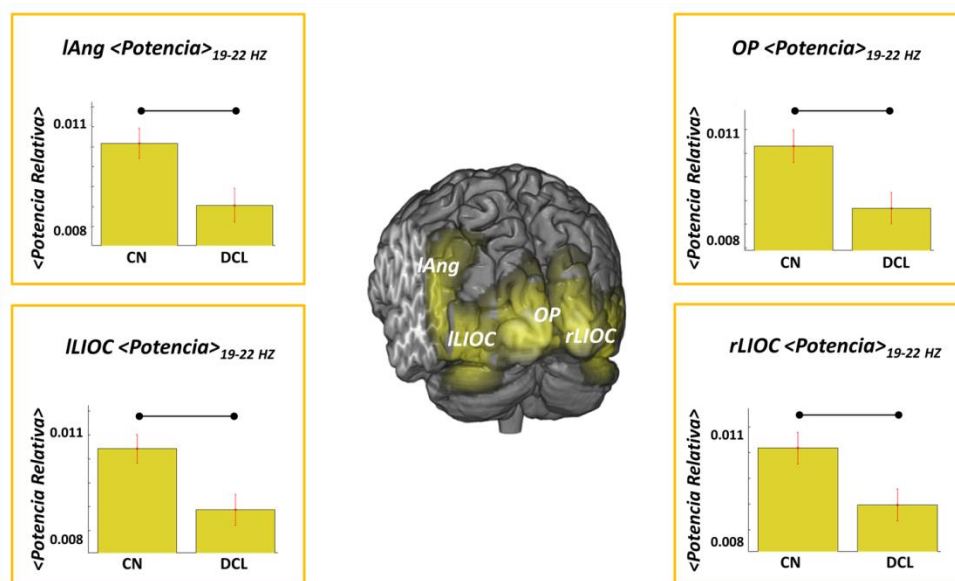


Figura 3.3. El efecto principal del diagnóstico en el rango de frecuencia 19-22 Hz. Los ROIs en amarillo muestran las diferencias significativas ($p < 0.05$) en el valor de potencia relativa entre controles (CN) y pacientes con DCL. Las barras amarillas de los gráficos muestran el correspondiente valor promedio de la potencia relativa de los ROIs para cada grupo. Las barras horizontales en la parte superior indican las diferencias significativas ($p < 0.05$) en potencia debidas efecto principal diagnóstico y las comparaciones por pares del t-test entre grupos. El tamaño del efecto para la comparación de la potencia relativa entre CN y DCL en lAng, iLIOC, OP, y rLIOC son -0.74, -0.83, -0.69 y -0.78 respectivamente.

Efecto principal del genotipo de APOE

El genotipo APOE ejerció un efecto significativo en el valor de potencia relativa (Figura 3.4) del giro frontal superior (SFG). Los portadores del alelo APOE-ε4 mostraron un incremento en la potencia relativa en el rango de teta “baja” (4.5-6.5 Hz) cuando se comparó con los no portadores. Los sujetos con genotipo APOE 34 mostraron valores de potencia más altos tanto en el grupo DCL como en el grupo CN. De hecho, las comparaciones entre DCL34 y DCL33, y entre CN34 y CN33 fueron significativas. Además, la distribución de los valores de potencia entre grupos sugirió una influencia combinada del efecto del genotipo y del diagnóstico. Los sujetos CN34 exhibieron un incremento significativo en la potencia relativa en el rango de frecuencias 4.5-6.5 Hz al compararlo con pacientes DCL33, mientras que los pacientes DCL34 mostraron un incremento de los valores de potencia en este rango en particular. Por último, no se encontraron diferencias significativas en la comparación entre pacientes DCL33 y los sujetos del grupo CN33.

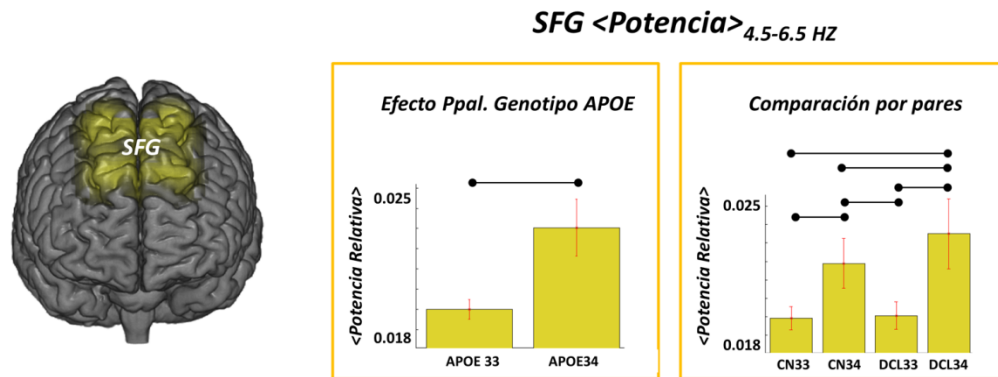


Figura 3.4. Efecto principal del genotipo APOE en el rango de frecuencia 4.5-6.5 Hz. Los ROIs en amarillo muestran las diferencias significativas ($p < 0.05$) en potencia relativa entre los sujetos con genotipo APOE 33 y aquellos con genotipo APOE 34. Las barras amarillas de los gráficos muestran la correspondencia del promedio de la potencia relativa de los ROIs para cada grupo. La barra horizontal de la parte superior indica las diferencias significativas ($p < 0.05$) de potencia debido al efecto principal de APOE y las comparaciones por pares del t-test entre grupos. El tamaño del efecto de las comparaciones de potencia relativa entre portadores del alelo APOE-ε4 y no portadores en el SFG es de 1.41. CN: controles, DCL: deterioro cognitivo leve.

Test	MMSE	Dígitos Inversos	Recuerdo Inmediato	Recuerdo demorado	TMT B [aciertos.]	TMT B [tiempo]	Test Boston
SFG	$p = 0.0014$ $r = -0.41$	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

Tabla 3.3. Valores “p” y “r” de Pearson de todas las correlaciones significativas entre los test neuropsicológicos y la potencia relativa en el rango de frecuencia 4.5-6.5. MMSE, test mini-mental, TMT, trail making test, n.s., no significativo.

Correlación potencia-neuropsicología

Rango de frecuencia 4.5-6.5 Hz. En este rango de frecuencia que resultó significativo en el análisis del efecto principal del genotipo APOE, los valores de la potencia relativa del SFG correlacionaron negativamente de forma significativa ($p < 0.05$) con las puntuaciones del MMSE, indicando que un incremento en el valor de potencia relativa en esta región estaría asociado con un mayor deterioro cognitivo (Tabla 3.3).

	MMSE	Dígitos Inversos	Recuerdo Inmediato	Recuerdo Demorado	TMT B [aciertos]	TMT B [tiempo]	BNT
OP	$p = 0.0141$ $r = -0.32$	n.s.	$p = 0.0048$ $r = -0.36$	$p = 0.0016$ $r = -0.41$	n.s.	n.s.	n.s.
LIIOC	$p = 0.0004$ $r = -0.45$	n.s.	$p = 0.0002$ $r = -0.46$	$p = 3e-05$ $r = -0.52$	$p = 0.0116$ $r = -0.33$	$p = 0.0153$ $r = 0.31$	$p = 0.0157$ $r = -0.31$
rLIIOC	$p = 0.0008$ $r = -0.43$	n.s.	$p = 0.0009$ $r = -0.41$	$p = 0.0002$ $r = -0.47$	$p = 0.0063$ $r = -0.35$	$p = 0.0111$ $r = 0.33$	$p = 0.0130$ $r = -0.32$
ILSOC	$p = 0.0008$ $r = -0.43$	$p = 0.0159$ $r = -0.31$	$p = 0.0005$ $r = -0.43$	$p = 5e-05$ $r = -0.51$	$p = 0.0041$ $r = -0.37$	$p = 0.0046$ $r = 0.36$	$p = 0.0046$ $r = -0.36$
rLSOC	$p = 0.0008$ $r = -0.43$	n.s.	$p = 0.0007$ $r = -0.42$	$p = 8e-05$ $r = -0.49$	$p = 0.0037$ $r = -0.37$	$p = 0.0050$ $r = 0.36$	$p = 0.0040$ $r = -0.37$
lAng	$p = 0.0008$ $r = -0.43$	n.s.	$p = 0.0003$ $r = -0.44$	$p = 1e-05$ $r = -0.54$	$p = 0.0046$ $r = -0.36$	$p = 0.0049$ $r = 0.36$	$p = 0.0113$ $r = -0.33$
rAng	$p = 0.0005$ $r = -0.44$	$p = 0.0097$ $r = -0.33$	$p = 0.0003$ $r = -0.44$	$p = 5e-05$ $r = -0.51$	$p = 0.0039$ $r = -0.37$	$p = 0.0050$ $r = 0.36$	$p = 0.0051$ $r = -0.36$
ISMG	$p = 0.0001$ $r = -0.49$	$p = 0.0020$ $r = -0.39$	$p = 6e-05$ $r = -0.49$	$p = 7e-06$ $r = -0.55$	$p = 0.0008$ $r = -0.42$	$p = 0.0017$ $r = 0.40$	$p = 0.0005$ $r = -0.44$
rSMG	$p = 5e-05$ $r = -0.51$	$p = 0.0020$ $r = -0.39$	$p = 0.0001$ $r = -0.48$	$p = 1e-05$ $r = -0.54$	$p = 0.0004$ $r = -0.44$	$p = 0.0008$ $r = 0.42$	$p = 0.0004$ $r = -0.44$
ISTG	$p = 0.0002$ $r = -0.47$	$p = 0.0105$ $r = -0.33$	$p = 0.0004$ $r = -0.41$	$p = 0.0004$ $r = -0.45$	$p = 0.0018$ $r = -0.40$	$p = 0.0059$ $r = 0.35$	$p = 0.0020$ $r = -0.39$
rSTG	$p = 0.0006$ $r = -0.44$	$p = 0.0063$ $r = -0.35$	$p = 0.0002$ $r = -0.41$	$p = 0.0002$ $r = -0.47$	$p = 0.0016$ $r = -0.40$	$p = 0.0032$ $r = 0.37$	$p = 0.0059$ $r = -0.35$

Tabla 3.4. Valores “r” y “p” de Pearson de todas las correlaciones significativas de los test neuropsicológicos y los valores de potencia relativa en el rango de frecuencia de 6-9 Hz. MMSE, test mini-mental; TMT, Trail Making Test, BNT, Boston Naming Test; n.s., no significativo; OP, polo occipital; LIIOC, córtex occipital lateral inferior izquierdo; rLIIOC, córtex occipital lateral inferior derecho; ILSOC, córtex occipital superior lateral izquierdo; rLSOC, córtex occipital superior lateral derecho; lAng, giro angular izquierdo; rAng, giro angular derecho; ISMG, giro supramarginal izquierdo; rSMG, giro supramarginal derecho; ISTG, giro temporal superior izquierdo; rSTG, giro temporal superior derecho

Rango de frecuencia 6-9 Hz. Como se ha descrito previamente, el incremento significativo de la potencia relativa en este rango de frecuencia en los sujetos con DCL involucraba prácticamente todas las regiones anatómicas. Este efecto “global” correlacionó inversamente con las puntuaciones de MMSE, recuerdo inmediato y demorado, el test de denominación Boston, la precisión en el Trail Making Test B (TMT-B) y el Spam en dígitos Inversos. Por otra parte, también se hallaron correlaciones directas entre el valor de potencia relativa en gran parte de los ROIs y el tiempo empleado en realizar TMT-B. Finalmente, se encontró una ligera correlación positiva entre la potencia en SMGs, y en ISTG con el tiempo empleado en el TMT-A. Estos resultados indicaban que valores de potencia relativa altos en estos ROIs parecían estar asociados con un menor estatus cognitivo en diferentes dominios (Tabla 3.4, Tabla 3.5 y Tabla 3.6).

	MMSE	Dígitos Inversos	Recuerdo Inmediato	Recuerdo Demorado	TMT B [aciertos]	TMT B [tiempo]	BNT
IPreCG	p = 0.0068	p = 0.0186	p = 0.0003	p = 0.0003	p = 0.0040	n.s.	p = 0.0064
	r = -0.35	r = -0.30	r = -0.38	r = -0.46	r = -0.37		r = -0.35
rPreCG	p = 0.0028	p = 0.0120	p = 0.0004	p = 0.0004	p = 0.0007	p = 0.0070	p = 0.0008
	r = -0.38	r = -0.32	r = -0.38	r = -0.45	r = -0.43	r = 0.34	r = -0.42
IPosCG	p = 0.0027	p = 0.0153	p = 0.0003	p = 0.0003	p = 0.0039	n.s.	p = 0.0036
	r = -0.39	r = -0.31	r = -0.39	r = -0.46	r = -0.37		r = -0.37
rPosCG	p = 0.0018	n.s.	p = 0.0002	p = 0.0002	p = 0.0094	n.s.	p = 0.0029
	r = -0.40		r = -0.40	r = -0.47	r = -0.33		r = -0.38
IFOC	p = 0.0046	n.s.	p = 0.0032	p = 0.0014	p = 0.0085	n.s.	n.s.
	r = -0.37		r = -0.37	r = -0.41	r = -0.34		
rFOC	p = 0.0033	n.s.	p = 0.0051	p = 0.0016	p = 0.0112	n.s.	n.s.
	r = -0.38		r = -0.35	r = -0.41	r = -0.33		
ITP	p = 0.0024	n.s.	p = 0.0004	p = 4e-05	p = 0.0091	n.s.	p = 0.0080
	r = -0.39		r = -0.44	r = -0.51	r = -0.34		r = -0.34
rTP	p = 0.0015	n.s.	p = 0.0025	p = 0.0006	p = 0.0066	n.s.	p = 0.0056
	r = -0.41		r = -0.38	r = -0.44	r = -0.35		r = -0.35
IITG	p = 0.0001	n.s.	p = 0.0019	p = 0.0001	n.s.	n.s.	n.s.
	r = -0.47		r = -0.39	r = -0.48			
rITG	p = 4e-05	n.s.	p = 0.0006	p = 4e-05	p = 0.0010	p = 0.0048	p = 0.0053
	r = -0.51		r = -0.42	r = -0.51	r = -0.42	r = 0.36	r = -0.36

Tabla 3.5. Valores “r” y “p” de Pearson de todas las correlaciones significativas de los test neuropsicológicos y los valores de potencia relativa en el rango de frecuencia de 6-9 Hz. MMSE, test mini-mental; TMT, Trail Making Test, BNT, Boston Naming Test; n.s., no significativo; IPosCG, giro poscentral izquierdo; rPosCG, giro poscentral derecho; IFOC, córtex orbitofrontal izquierdo; rFOC, córtex orbitofrontal derecho; ITP, polo temporal izquierdo; rTP, polo temporal derecho; IITG, giro temporal inferior izquierdo; rITG, giro temporal inferior derecho;

Rango de frecuencia 10-14 Hz. Los valores de potencia relativa en este rango de frecuencia en rFOC y ITP estaban correlacionados positivamente con el MMSE, con el recuerdo inmediato y con el demorado. De este modo, cuanto mayor valor de potencia relativa en estos ROIs, mejor estado cognitivo global y mejor rendimiento en puntuaciones de memoria (Tabla 3.7).

Rango de frecuencia 19-22 Hz. Los valores de potencia de OP, lAng, lLIOC y rLIOC se mostraron directamente correlacionados de una forma significativa con el MMSE, el recuerdo inmediato, el recuerdo demorado, la precisión en TMT-B, el test de denominación de Boston y el spam de dígitos inversos. La puntuación en tiempo del TMT-B se mostró inversamente correlacionada con los valores de potencia en cuatro ROIs. El tiempo empleado en TMT-A siguió la misma tendencia pero solo mostró una correlación significativa en lAng y lLIOC. Así pues, del mismo modo que en el rango de frecuencia 10-14 Hz, un incremento de potencia en altas frecuencias está asociado con un mejor rendimiento cognitivo (Tabla 3.7).

	MMSE	Dígitos Inversos	Recuerdo Inmediato	Recuerdo Demorado	TMT B [aciertos]	TMT B [tiempo]	BNT
Pcc	p = 0.0011	p = 0.0097	p = 0.0011	p = 0.0003	p = 0.0009	p = 0.0031	p = 0.0021
	r = -0.42	r = -0.33	r = -0.41	r = -0.46	r = -0.42	r = 0.38	r = -0.39
Acc	p = 0.0005	p = 0.0081	p = 0.0011	p = 0.0002	p = 0.0004	p = 0.0065	p = 0.0008
	r = -0.45	r = -0.34	r = -0.41	r = -0.47	r = -0.44	r = 0.35	r = -0.42
Pc	p = 0.0011	p = 0.0156	p = 0.0005	p = 6e-05	p = 0.0014	p = 0.0029	p = 0.0037
	r = -0.42	r = -0.31	r = -0.43	r = -0.50	r = -0.41	r = 0.38	r = -0.37
lHip	p = 0.0033	n.s.	p = 0.0061	p = 0.0005	p = 0.0120	p = 0.0145	p = 0.0173
	r = -0.38		r = -0.35	r = -0.44	r = -0.33	r = 0.31	r = -0.31
rHip	p = 0.0040	n.s.	p = 0.0051	p = 0.0005	p = 0.0069	p = 0.0090	p = 0.0078
	r = -0.37		r = -0.35	r = -0.44	r = -0.35	r = 0.33	r = -0.34
IPFC	p = 0.0011	n.s.	p = 0.0042	p = 0.0006	p = 0.0023	p = 0.0154	p = 0.0099
	r = -0.42		r = -0.36	r = -0.44	r = -0.39	r = 0.31	r = -0.33
rPFC	p = 0.0006	n.s.	p = 0.0020	p = 0.0002	p = 0.0034	p = 0.0127	p = 0.0069
	r = -0.44		r = -0.39	r = -0.47	r = -0.37	r = 0.32	r = -0.35
mPFC	p = 7e-05	p = 0.0161	p = 0.0002	p = 3e-05	p = 0.0044	p = 0.0080	p = 0.0017
	r = -0.49	r = -0.31	r = -0.45	r = -0.52	r = -0.37	r = 0.34	r = -0.40

Tabla 3.6. Valores “r” y “p” de Pearson de todas las correlaciones significativas de los test neuropsicológicos y los valores de potencia relativa en el rango de frecuencia de 6-9 Hz. MMSE, test mini-mental; TMT, Trail Making Test, BNT, Boston Naming Test; n.s., no significativo; Pcc, córtex cingulado posterior; Acc, córtex cingulado anterior; Pc, precuneus; lHip, hipocampo izquierdo; rHip, hipocampo derecho; IPFC, córtex prefrontal izquierdo; rPFC, córtex prefrontal derecho; mPFC, córtex prefrontal medial

	MMSE	Dígitos Inversos	Recuerdo Inmediato	Recuerdo Demorado	TMT B [aciertos]	TMT B [tiempo]	BNT
Rango de Frecuencia 10-14Hz							
rFOC	p = 0.0025	n.s.	p = 0.0074	p = 0.0083	n.s.	n.s.	n.s.
	r = 0.39		r = 0.34	r = 0.34			
ITP	p = 0.0100	n.s.	p = 0.0110	p = 0.0087	n.s.	n.s.	n.s.
	r = 0.34		r = 0.32	r = 0.34			
Rango de Frecuencia 19-22Hz							
OP	p = 0.0007	p = 0.0073	p = 0.0015	p = 7e-05	p = 0.0087	p = 0.0004	p = 0.0042
	r = 0.43	r = 0.34	r = 0.40	r = 0.50	r = 0.34	r = -0.44	r = 0.36
lLIOC	p = 0.0001	p = 0.0146	p = 0.0013	p = 3e-05	p = 0.0107	p = 0.0008	p = 0.0026
	r = 0.48	r = 0.31	r = 0.40	r = 0.52	r = 0.33	r = -0.42	r = 0.38
rLIOC	p = 0.0002	p = 0.0033	p = 0.0030	p = 0.0003	p = 0.0122	p = 0.0006	p = 0.0014
	r = 0.46	r = 0.37	r = 0.38	r = 0.46	r = 0.32	r = -0.43	r = 0.40
lAng	p = 0.0002	p = 0.0208	p = 0.0085	p = 0.0001	p = 0.0143	p = 0.0006	p = 0.0004
	r = 0.46	r = 0.30	r = 0.34	r = 0.48	r = 0.32	r = -0.43	r = 0.44

Tabla 3.7. Valores “r” y “p” de Pearson de todas las correlaciones significativas entre los test neuropsicológicos y los valores de potencia relativa en el rango de frecuencia de 10-14 y 19-22 Hz. rFOC, córtex orbitofrontal derecho; ITP, polo temporal izquierdo; OP, polo occipital; lLIOC, córtex occipital lateral inferior izquierdo; rLIOC, córtex occipital lateral inferior derecho; lAng, giro angular izquierdo; MMSE, test mini-mental; TMT, Trail Making Test; ; BNT, Boston Naming Test; n.s., no significativo

3.1.4 Conclusiones

Los resultados de este estudio ofrecieron una nueva información acerca de la influencia de ser portador del alelo APOE- ϵ 4 en la actividad neurofisiológica de ancianos sanos y con DCL. Como se esperaba, los pacientes con DCL mostraron un enlentecimiento consistente en un incremento de la potencia en frecuencias bajas (6-9Hz) acompañado por un decremento en frecuencias altas (10-14Hz y 19-22Hz).

Respecto a la influencia del alelo APOE- ϵ 4, se encontró que los sujetos portadores, con independencia de su estado cognitivo mostraban un incremento de potencia en el rango (4.5-6.5Hz) en la región frontal. Este resultado, fue cotejado en todas las comparaciones por pares, viéndose que ambos grupos portadores del alelo APOE- ϵ 4 poseían un valor significativamente alto respecto a ambos grupos no portadores. Además, el valor del grupo DCL34 fue significativamente más alto que el de los sujetos del grupo CN34, lo que parecía sugerir que no era un mecanismo de compensación sino quizás un rasgo neuropatológico.

Sin embargo, la premisa inicial no se vio completamente correspondida al no encontrar ningún efecto significativo relacionado con el alelo APOE- ϵ 4 en las bandas de frecuencia alta.

Por último, se ha hallado constantemente una relación entre una mayor potencia relativa en frecuencias bajas y un menor rendimiento cognitivo en ambas poblaciones. La relación inversa; mayor potencia en frecuencia altas mejor rendimiento cognitivo, también ha sido encontrada pero con un grado de significación mucho menor.

En definitiva, este estudio cumplió mayoritariamente con su premisa inicial consistente en evaluar la influencia del mayor factor de riesgo genético de la enfermedad de Alzheimer en la actividad electrofisiológica basal. Esto apuntala la idea de que es necesario evaluar la información genética de los sujetos en aras de obtener unos grupos más homogéneos en cuanto al verdadero estado neuropatológico de los pacientes.

3.2 Influencia del alelo APOE- ϵ 4 y del diagnóstico de DCL en la disrupción de la conectividad funcional en el espacio de fuentes de la actividad en reposo cerebral medida con MEG.

3.2.1 Objetivos e Hipótesis

El alelo APOE- ϵ 4 es el mayor factor de riesgo genético de la enfermedad de Alzheimer. Sin embargo su influencia en el proceso neurodegenerativo que conlleva la enfermedad está aún por determinar. En este estudio se investigó el posible rol de ser portador del alelo APOE- ϵ 4 en la actividad cerebral en reposo, evaluada mediante conectividad funcional, en sujetos ancianos sanos y con deterioro cognitivo leve.

El objetivo principal consistió en caracterizar la posible interacción de ser o no portador del alelo APOE- ϵ 4 con tener o no deterioro cognitivo en la integridad funcional del cerebro. De manera que pudieran hallarse trazas funcionales utilizables como posibles biomarcadores de un mayor riesgo de desarrollar la EA.

La hipótesis fundamental argumentaba que el alelo APOE- ϵ 4 había de afectar a la organización funcional del cerebro tanto en el envejecimiento sano como en el patológico. Además, dicha afectación podría darse a través de dos vías no excluyentes entre sí: 1) mediante la potenciación de los cambios inherentes al propio proceso de deterioro cognitivo; 2) de una forma independiente y por tanto observable en los ancianos sanos.

3.2.2 Métodos

Características de la población

La muestra del presente estudio consistió en 63 nativos españoles diestros (27 controles y 36 pacientes con DCL). Los pacientes con DCL fueron reclutados de la *Unidad de Geriátrica y Neurología del Hospital Universitario San Carlos* y del *Centro de prevención para el deterioro de memoria*, ambos en Madrid, España. Los voluntarios sanos fueron reclutados del *Centro de mayores del distrito de Chamartín*, también en Madrid. Las características demográficas pueden hallarse en la Tabla 3.1.

El criterio diagnóstico para los sujetos con DCL fue realizado conforme a los nuevos criterios diagnósticos de 2011⁶ (Figura 1.16). Consecuentemente, en esta muestra todos los sujetos DCL fueron diagnosticados como *DCL debido a EA con certeza intermedia* debido a que mostraron un marcador de neurodegeneración positivo (atrofia hipocampal).

	CN 33	CN 34	DCL 33	DCL 34	Valor p ANOVA
n	19	8	20	16	
Edad	70 ± 4	70 ± 4	72 ± 5	72 ± 3	0.28
Ratio sexo (H/M)	8/11	3/5	8/12	8/8	0.92
Puntuación MMSE	29.4 ± 0.7	29.5 ± 0.5	27.4 ± 2.4	27.4 ± 3.0	0.0014
Nivel educativo	3.7 ± 1.3	3.9 ± 0.9	3.3 ± 1.2	3.0 ± 1.1	0.21
RHV	0.0025 ± 0.0003	0.0026 ± 0.0003	0.0022 ± 0.0005	0.0021 ± 0.0005	0.0037
LHV	0.0025 ± 0.0004	0.0026 ± 0.0003	0.0022 ± 0.0005	0.0021 ± 0.0005	0.0071
nTrials	31 ± 6	31 ± 7	30 ± 8	32 ± 6	0.94

Tabla 3.8. Descripción demográfica. DCL, deterioro cognitivo leve. CN, control. 33 o 34, genotipo APOE 33 o 34 respectivamente. H, hombres; H, mujeres; MMSE test mini-mental; n trials, número de segmentos limpios de 4 segundos empleados en el análisis. El RHV (volumen hipocampal derecho) y el LHV (volumen hipocampal izquierdo) fueron normalizados con el volumen intracraneal total. El nivel educacional fue agrupada en 5 niveles: 1) analfabeto, 2) estudios primarios, 3) estudios elementales, 4) estudios medios, y 5) estudios universitarios. nTrials, número medio de segmentos de señal MEG de 4 segundos incluidos en el estudio.

Todos los participantes fueron evaluados mediante la misma batería de instrumentos neuropsicológicos y de diagnóstico que la empleada en el estudio del apartado 3.1

De acuerdo con sus perfiles clínicos y neuropsicológicos, todos los pacientes con DCL cumplían los criterios para el subtipo amnésico de un solo dominio ya que únicamente mostraron padecer problemas de memoria¹⁸⁹. Antes de la realización de los registros MEG, todos los sujetos firmaron un consentimiento informado donde se les explicaba todas las consideraciones tecnológicas y éticas de la investigación. El estudio fue aprobado por el Comité Ético Local.

Todos los sujetos llevaron a cabo los registros MEG (3 minutos de actividad basal con ojos cerrados), MRI (T1, Flair) y se sometieron a análisis de sangre para la obtención de su perfil genético. La información sobre las características de estas pruebas se encuentra detallada en el apartado 2-.

Particularidades metodológicas

Las señales MEG fueron preprocesadas como se ha indicado en la sección 2.2 y se muestra en (Figura 2.1). Además, el análisis de FC ha sido esquematizado en la (Figura 2.5). La conectividad funcional se calculó con todos los nodos del grid de 302 nodos (ver apartados 2.3.1 y 2.3.2) para cada una de las bandas de frecuencia siguientes: delta (2-4Hz), teta (4-8Hz), alfa (8-12Hz), beta1 (12-20Hz), beta2 (20-30Hz) y gamma (31-45Hz).

Con el objetivo de reducir la información e introducir información anatómica se recurrió al atlas Harvard-Oxford⁵⁴. En este estudio se seleccionaron los mismos 30 ROIs que han sido descritos en el apartado 3.1 y que están listados en la Tabla 3.2. Los valores de FC fueron promediados entre todos los nodos que componían cada ROI de manera que se pasó de una matriz de 302 nodos x 302 nodos, cuya diagonal principal eran 1's, a una de 30x30 donde la diagonal principal denotaba la FC intra-ROI, entendiendo ésta como la FC media de todos los links que involucraban nodos dentro del mismo ROI. De esta forma, los datos

de partida tenían las siguientes dimensiones: 30 (ROIs) x 30 (ROIs) x 6 (bandas de frecuencia) x 63 (sujetos).

El procedimiento del análisis estadístico estuvo compuesto por dos fases diferenciadas. En primer lugar se estudiaron las diferencias entre grupos en los valores de conectividad media global, calculada para cada ROI como el promedio de la conectividad con el resto de los ROIs. A dichos valores se les denominó *grado* en consonancia con la nomenclatura de la Teoría de Sistemas Complejos³⁴⁹. El contraste estadístico para evaluar las diferencias en los 30 valores de grado en cada banda de frecuencia fue un ANOVA 2x2 con el diagnóstico y el genotipo de APOE como factores principales. Como en el estudio anterior, previamente a ser evaluados con ANOVA, los datos fueron transformados mediante [2.42] para asegurar que seguían una distribución normal. En aquellos ROIs que mostraron un valor del grado significativamente distinto se usaron t-test a modo de comparaciones por pares de grupos post-hoc. El último paso, conllevó la utilización de un test de permutaciones para comprobar los valores significativos (ver apartado 2.4) y se calcularon los tamaños del efecto en cada caso mediante [2.43].

El segundo nivel de análisis consistió en evaluar la integridad funcional de las redes pertenecientes a cada uno de los ROIs que habían mostrado una conectividad global alterada. Esto se llevó a cabo mediante el análisis de las redes asociadas a cada ROI que estaban compuestas por los 29 links que unen a cada ROI con los demás, más el valor de la conectividad intra-ROI. De manera que en cada resultado significativo de la fase anterior se evaluaron 30 valores con la intención de testar que links eran los que más contribuían a que la conectividad global del ROI estuviera alterada. El procedimiento consistió en un nuevo ANOVA 2X2 para cada uno de los 30 valores, con sus correspondientes comprobaciones por pares post-hoc. En este caso la corrección final fue realizada mediante el test no paramétrico basado en clústeres (ver apartado 2.4), donde un clúster estaba conformado por todos los links significativos de cada red asociada a uno de los ROIs seleccionados en el primer nivel.

En todas las comparaciones que involucraron el grupo CN34 se aplicó un test extra consistente en escoger aleatoriamente 10 sujetos del grupo contra el que eran comparados. Este procedimiento se repitió 2000 veces y únicamente los resultados que eran significativos en al menos el 85% de las comparaciones fueron incluidos en los resultados.

Para cada valor de FC significativa se analizaron sus posibles correlaciones, mediante Pearson, con las puntuaciones de los test neuropsicológicos y los valores de volumetría hipocampal. Las correlaciones significativas fueron chequeadas mediante un test de permutaciones (ver apartado 2.4).

3.2.3 Resultados

Efecto diagnóstico

Las diferencias significativas debidas al efecto del diagnóstico se encontraron únicamente en las bandas alfa (Figura 3.5) y beta 1 (Figura 3.6). En ambos casos, el grupo DCL mostró un decremento de FC, principalmente en áreas parieto-temporales e hipocampales.

Análisis en la banda alfa (Figura 3.5, amarillo). El grupo DCL mostró un decremento de la FC global en cuatro ROIs: el giro supramarginal izquierdo (ISMG), el giro supramarginal derecho (rSMG), y en ambos hipocampos.

Análisis de las redes asociadas a la banda alfa (Figura 3.5, azul). El rSMG mostró siete links alterados: cuatro fueron bilaterales (involucrando áreas parietales e hipocampales) y tres fueron ipsilaterales (comprendiendo regiones parieto-frontales). El ISMG mostró cuatro links: tres de ellos localizados dentro del hemisferio izquierdo (comprendiendo el córtex prefrontal izquierdo (IPFC), hipocampo izquierdo (lHip) e intra ISMG) y uno uniendo el giro precentral derecho (rPreCG). Las redes del hipocampo mostraron patrones de FC asimétricos. Mientras que el hipocampo derecho (rHip) tuvo solo dos links (comprendiendo lPreCG y el giro temporal superior izquierdo (ISTG)), el hipocampo izquierdo (lHip) mostró 5 links comprendidos en regiones temporo-parietales.

Los valores de grado de los ROIs rSMG, ISMG y lHip correlacionaron positivamente de manera significativa con algunas puntuaciones de neuropsicología (Figura 3.5). Además, varios links mostraron la misma tendencia, en particular, los valores de FC de tres de ellos resultaron estar correlacionados significativamente con todos los test neuropsicológicos: rSMG-ISTG, rSMG-giro angular derecho (rAng) y ISMG-rPreCG.

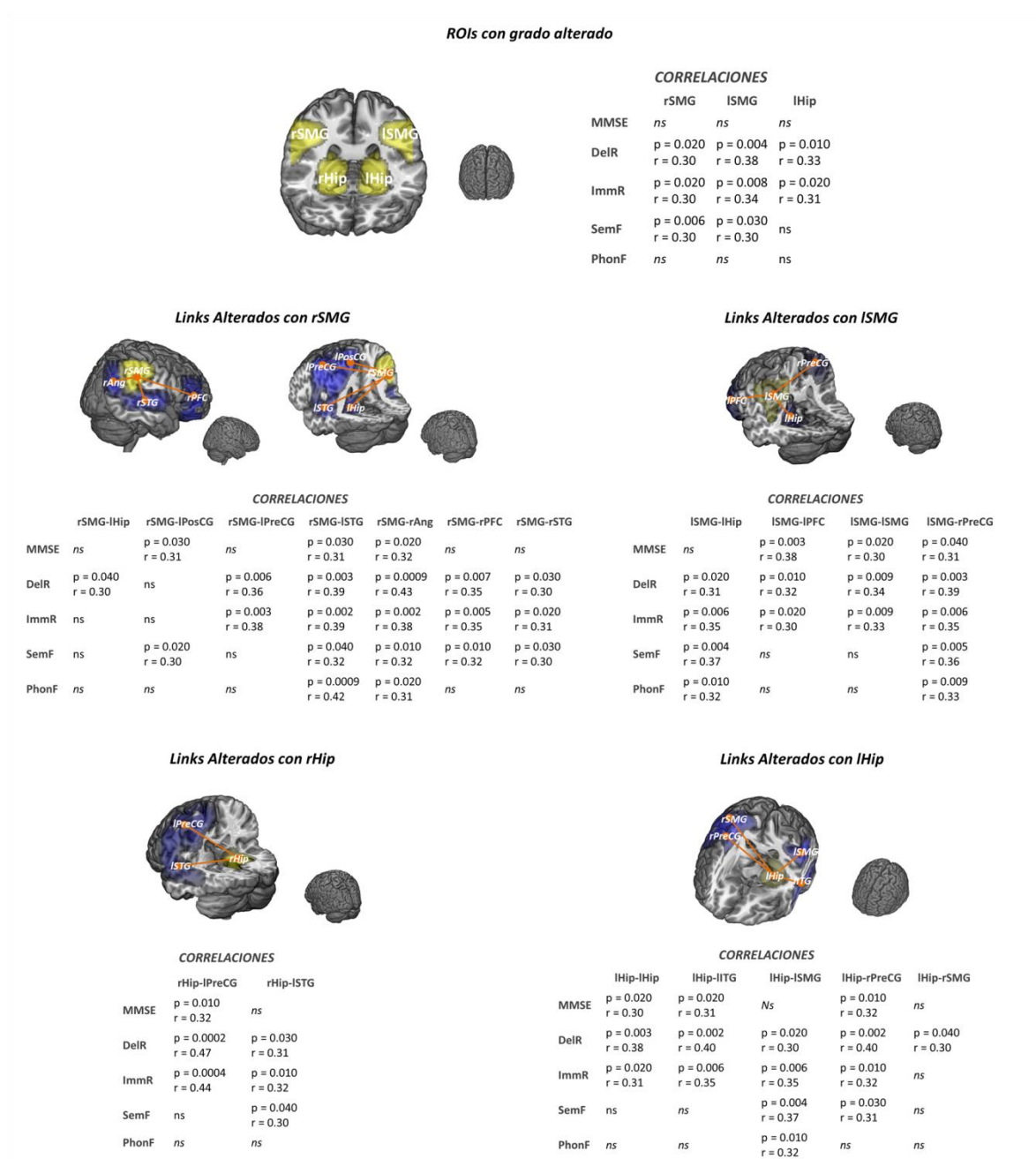


Figura 3.5. Efecto principal del diagnóstico en la banda alfa. En amarillo se muestran los ROIs con diferencias significativas en los valores de FC media global (grado) entre los grupos control (CN) y el confirmado por los sujetos con Deterioro Cognitivo Leve (DCL). En azul se muestran para cada ROI resaltado en amarillo sus links con diferencias significativas en los valores de FC entre CN y DCL. En las tablas se muestran los valores rho y p de Pearson de las correlaciones significativas entre los valores de FC y los de los test neuropsicológicos o los volúmenes de hipocampo.

Análisis en la banda beta1 (Figura 3.6, amarillo). En este caso cuatro ROIs tuvieron unos valores de grado significativamente disminuidos en el grupo DCL: el rSMG, el rPreCG, el rSTG y el rHip.

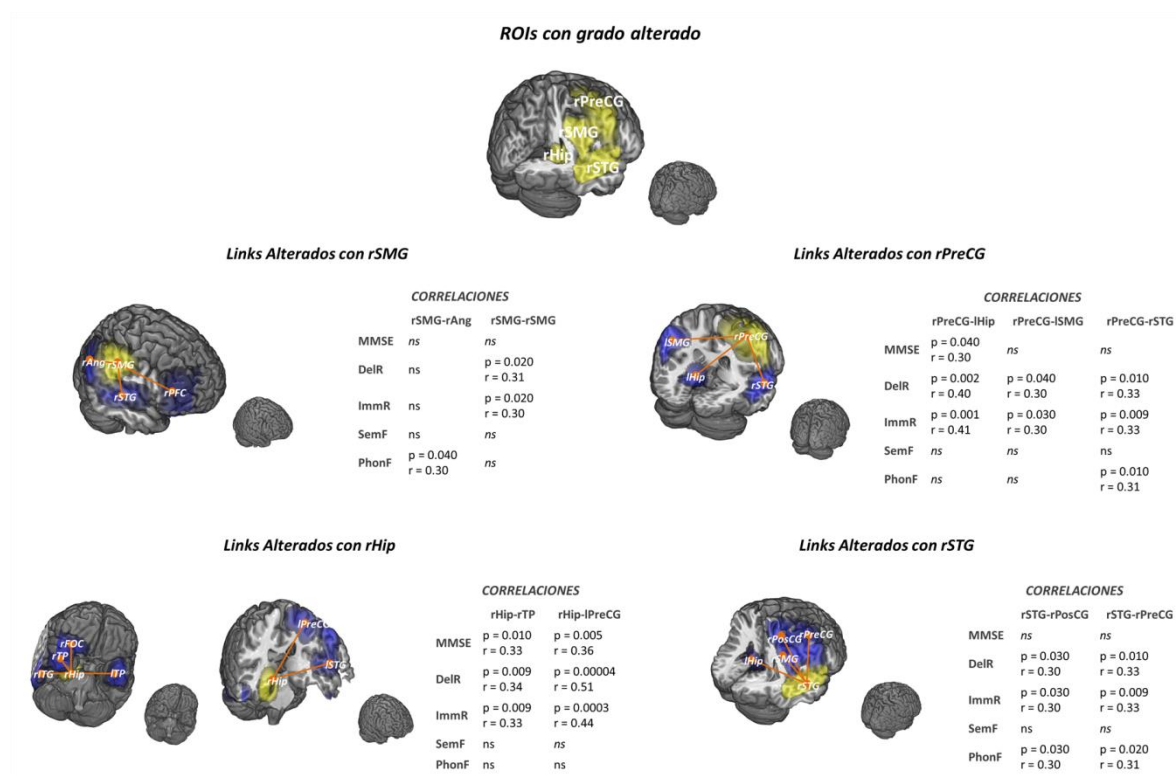


Figura 3.6. Efecto principal del diagnóstico en la banda beta1 (12-20Hz). En amarillo se muestran los ROIs con diferencias significativas en los valores de FC media global (grado) entre los grupos control (CN) y el conformado por los sujetos con Deterioro Cognitivo Leve (DCL). En azul se muestran para cada ROI resaltado en amarillo sus links con diferencias significativas en los valores de FC entre CN y DCL. En las tablas se muestran los valores rho y p de Pearson de las correlaciones significativas entre los valores de FC y los de los test neuropsicológicos o los volúmenes de hipocampo.

Análisis de la red asociada a la banda beta1 (Figura 3.6, azul). El rHip fue el ROI con más links alterados (involucrando el córtex orbito-frontal derecho (rFOC), el giro temporal inferior derecho (rITG), el polo temporal derecho (rTP), el ITP, el lPreCG y el ISTG). Los links alterados en el rSTG y el rSMG estaban casi completamente contenidos dentro de la región parieto-temporal derecha (rAng, rSTG y rPFC para el rSMG y el giro poscentral derecho (rPosCG), rSMG, y rPreCG para el rSTG), con la única excepción de lHip-rSTG. Finalmente, el PreCG tuvo tres links, con el lHip, el ISMG y el rSTG, con diferencias significativas.

En este caso, solo algunos links mostraron correlaciones positivas significativas con las puntuaciones neuropsicológicas. La correlación más alta correspondió con el valor de FC entre el rHip y el lPreCG: $r = 0.51$ y $r = 0.44$ para los test de recuerdo demorado e inmediato, respectivamente.

Efecto del Genotipo APOE

Para el efecto del genotipo APOE, se hallaron diferencias significativas en los valores de grado de la banda delta en el córtex occipital lateral inferior izquierdo (ILIOC). Los portadores del alelo APOE- ϵ 4 mostraron un decremento del valor del grado (Figura 3.7, amarillo). Este decremento fue mediado por tres links de larga distancia (ILIOC con IPFC, mPFC, y rTP) (Figura 3.7, azul).

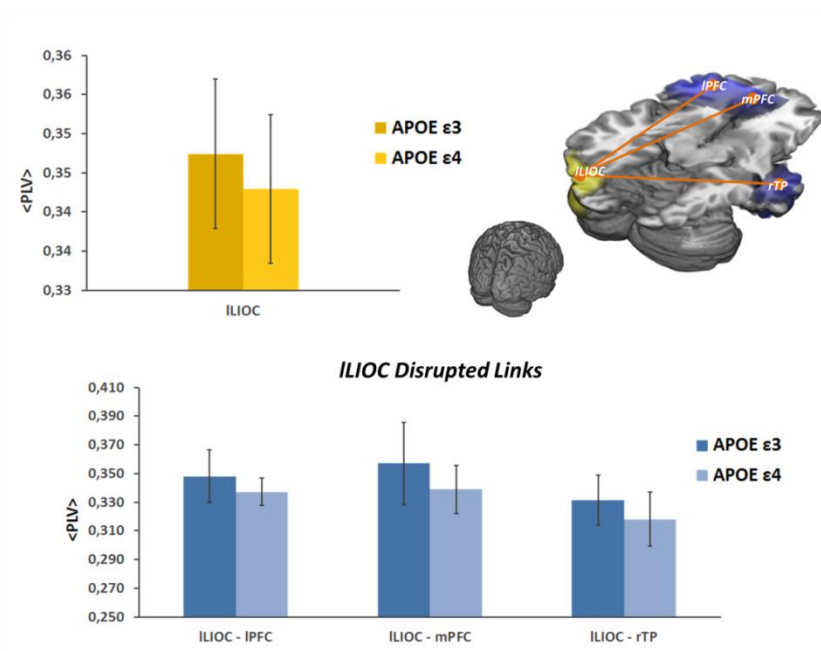


Figura 3.7. Efecto principal del genotipo APOE en la banda delta. En amarillo se muestran los ROIs con diferencias significativas en los valores de FC media global (grado) entre los grupos formados por los sujetos con APOE 34 y APOE 33. En azul se muestran para cada ROI resaltado en amarillo sus links con diferencias significativas entre APOE 34 y APOE 33. Los diagramas de barras reflejan los valores medios de FC de cada resultado significativo. Las barras de error corresponden con los errores estándar de cada valor de FC significativo.

Efecto de interacción (diagnóstico – genotipo APOE)

El efecto interacción resaltó la importancia de la región temporal-fronto-orbital derecha en la actividad de las bandas delta y teta.

Análisis de la banda delta (Figura 3.8, amarillo). El grupo DCL34 mostró una disminución del grado en ambos ROIs en comparación con los otros 3 grupos. La relación de los valores de grado de los cuatro grupos siguió el patrón: CN34>CN33≈DCL33>DCL34. Además el valor de grado correlacionó positivamente con los test de memoria episódica.

Análisis de la red asociada a la banda delta (Figura 3.8, azul). El ROI rFOC tenía alterada la FC con otros 6 ROIs: los dos hipocampos y cuatro links con regiones temporo-parietales en

el hemisferio izquierdo (IPreCG, IPosCG, ITP and ISTG). Por otra parte, el rTP únicamente tuvo dos links con valores de FC diferentes significativamente (IPreCG y ISTG).

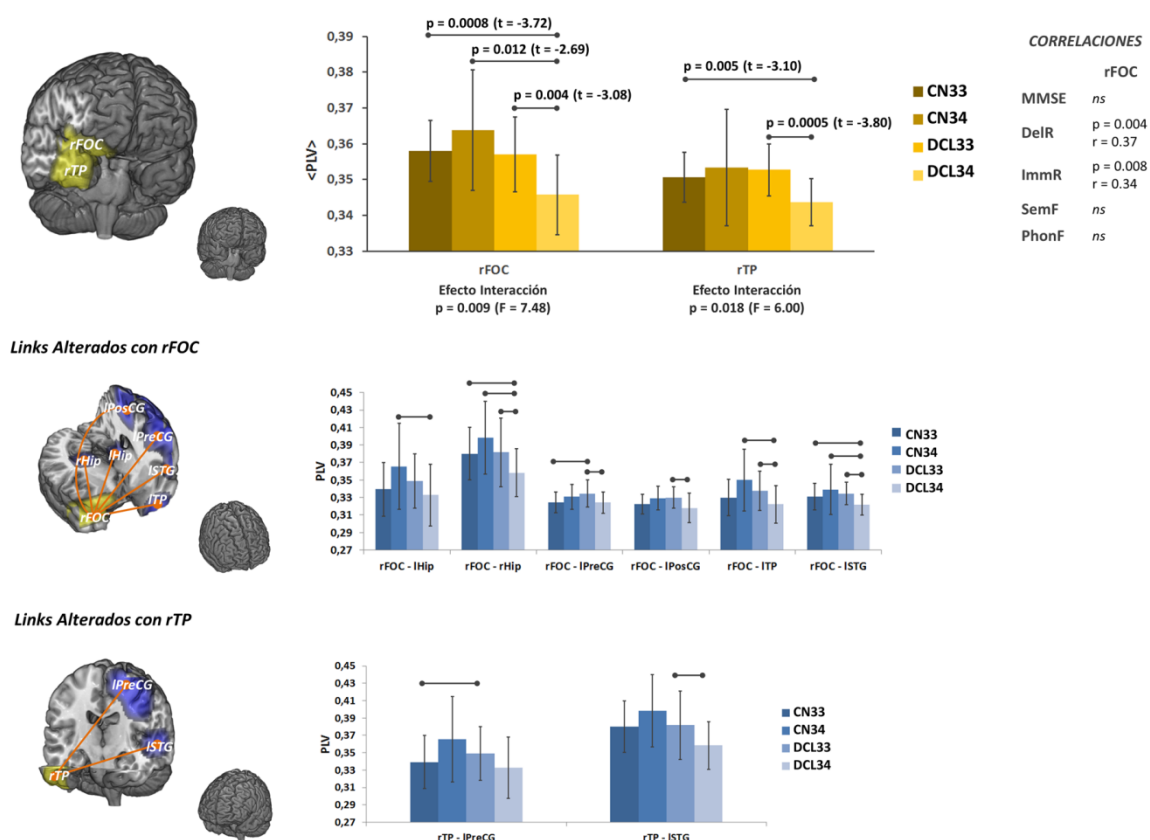


Figura 3.8. Efecto interacción (APOE-diagnóstico) en la banda delta. En este análisis se consideran 4 grupos: controles con genotipo APOE 33 (CN33), controles con genotipo APOE 34 (CN34), sujetos con Deterioro Cognitivo Leve con genotipo APOE 33 (DCL33), sujetos con Deterioro Cognitivo Leve con genotipo APOE 34 (DCL34). En amarillo se muestran los ROIs con diferencias significativas en el efecto interacción en los valores de FC media global (grado). En azul se muestran para cada ROI resaltado en amarillo sus links con diferencias significativas entre al menos un par de grupos. Los diagramas de barras reflejan los valores medios de conectividad de cada resultado significativo. Las barras de error corresponden con los errores estándar de cada valor de FC significativo. En la tabla superior se muestran los valores rho y p de Pearson de las correlaciones significativas entre los valores de FC y los de los test neuropsicológicos o los volúmenes de hipocampo.

Análisis de la banda teta (Figura 3.9, amarillo). En esta banda la tendencia del valor medio de grado entre los grupos siguió el patrón: CN34>DCL33>CN33>DCL34 con diferencias significativas en la comparación intra-DCL.

Análisis de la red asociada a la banda teta (Figura 3.9, azul). Todos los links significativos se hallaron localizados en el hemisferio derecho. En esta banda el papel entre ambos ROIs pareció cambiar ya que en teta fue el rTP el que tenía hasta 5 links con alteraciones en la FC: rAng, rSMG, rLIOG, rPFC and rFOC, mientras que el rFOC únicamente tuvo dos: rTP y mPFC.

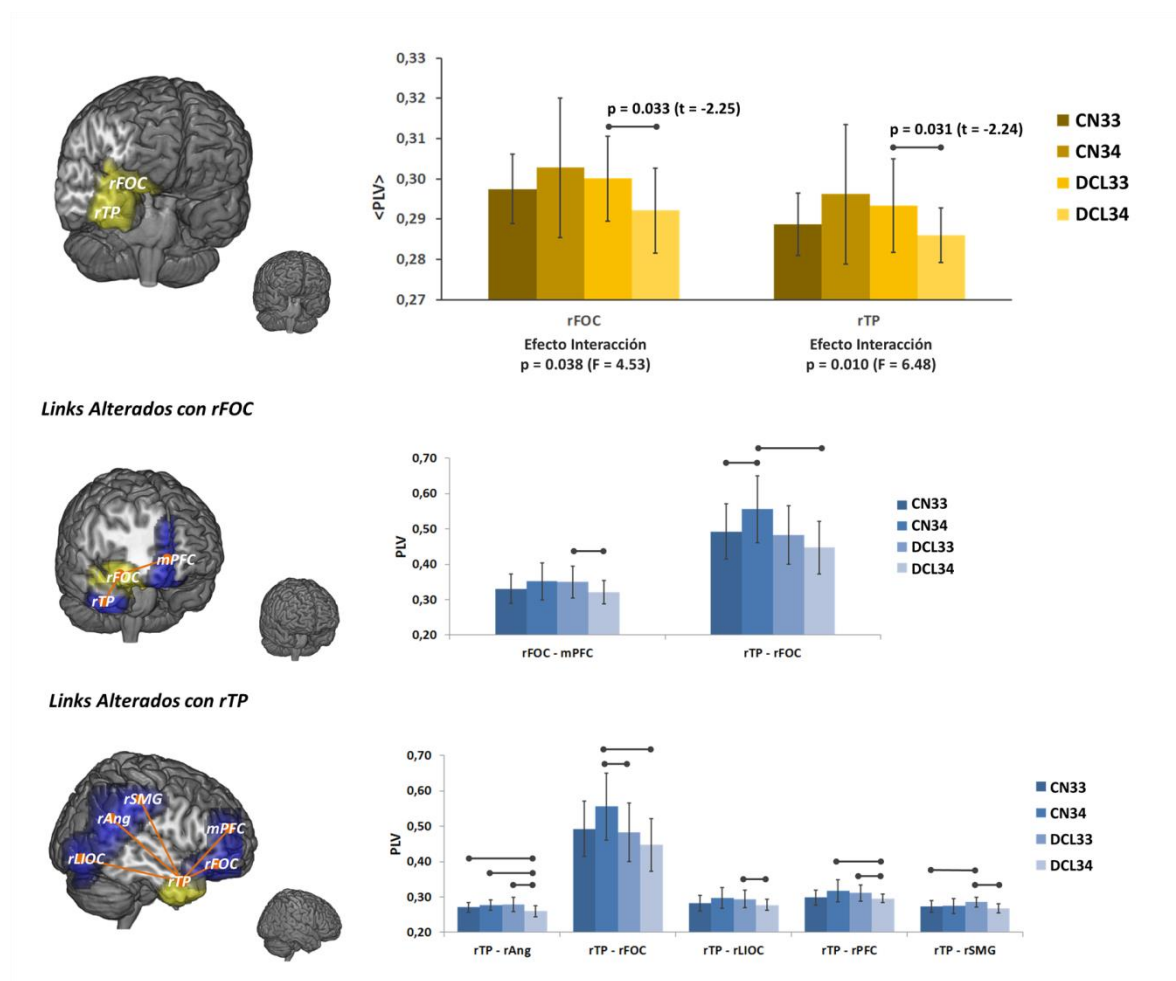


Figura 3.9. Efecto interacción (APOE-diagnóstico) en la banda theta. En este análisis se consideran 4 grupos: controles con genotipo APOE 33 (CN33), controles con genotipo APOE 34 (CN34), sujetos con Deterioro Cognitivo Leve con genotipo APOE 33 (DCL33), sujetos con Deterioro Cognitivo Leve con genotipo APOE 34 (DCL34). En amarillo se muestran los ROIs con diferencias significativas en el efecto interacción en los valores de FC media global (grado). En azul se muestran para cada ROI resaltado en amarillo sus links con diferencias significativas entre al menos un par de grupos. Los diagramas de barras reflejan los valores medios de conectividad de cada resultado significativo. Las barras de error corresponden con los errores estándar de cada valor de FC significativo.

3.2.4 Conclusiones

En este estudio se encontraron diferencias importantes mediadas por el diagnóstico de deterioro cognitivo leve y la tenencia o no del alelo APOE- ϵ 4.

El efecto diagnóstico pareció mediar alteraciones en la FC centradas fundamentalmente en ROIs partícipes de la DMN. Las alteraciones consistieron en que los sujetos con DCL mostraron un claro decremento de la FC en ambos parietales e hipocampus en las bandas alfa y beta1. Este resultado encajaba muy bien con literatura previa en la que se ha

descrito un decremento de la FC en la DMN conforme la enfermedad de Alzheimer va progresando.

Por el contrario, el efecto del genotipo de APOE pareció ser más relevante en la conectividad de larga distancia antero-posterior en la banda delta donde los sujetos con genotipo 34 de APOE mostraron una menor FC.

Pero más importante es el hallazgo del interesante efecto combinado APOE-diagnóstico DCL en el que la región fronto-temporal derecha mostró unas alteraciones funcionales bastante particulares entre los 4 grupos implicados. En particular, el comportamiento de los dos grupos portadores del alelo APOE- ϵ 4 pareció corresponder con un mecanismo de compensación en el que se diferenciarían dos etapas de un hipotético proceso neuropatológico subyacente. Este mecanismo se caracterizaba por un incremento de FC en los CN34 acompañado por un hundimiento en los valores de FC de los sujetos DCL34.

En conclusión, la premisa inicial no ha sido completamente suscrita en el sentido de que los efectos encontrados en cada caso parecen ser bastante diferentes entre sí. No se han hallado efectos directos del alelo- ϵ 4 en el agravamiento del proceso degenerativo asociado al deterioro cognitivo, aunque si se han encontrado ciertos indicios de que los sujetos con el alelo pueden tener una vulnerabilidad extra, que desestabilizaría la red de una forma más amplia y compleja, lo que en definitiva estaría ocasionando el consabido efecto pernicioso de ser portador del alelo APOE- ϵ 4.

3.3- Neuroimagen Multimodal MEG PiB-PET en las fases preclínicas y prodrómicas de la Enfermedad de Alzheimer.

3.3.1 Objetivos e Hipótesis

Este trabajo pretende ahondar en la interrelación de la neuropatología subyacente a la enfermedad de Alzheimer, en concreto la acumulación de la proteína beta-amiloide, y la actividad espontánea electrofisiológica en ancianos sanos y con DCL.

En este estudio se establecieron varias hipótesis de partida. La primera suponía la existencia de alguna relación entre la acumulación de amiloide y los perfiles espectrales de la actividad basal del cerebro. De manera que se pudiera comprobar tanto entre los controles con y sin amiloidosis como entre los sujetos con DCL.

La segunda hipótesis guardaba relación con los nuevos criterios diagnósticos (Figura 1.16). Dado que la acumulación de amiloide es considerada un marcador neuropatológico de la EA, entonces quizás los sujetos con DCL sin rastro de amiloidosis podrían estar desarrollando otro tipo de neuropatología. En ese caso se esperaba que la comparación general CN vs DCL mostrase el típico patrón de envejecimiento, pero que al separar los DCL en función de si presentaban amiloidosis o no se pudieran observar diferentes comportamientos para cada subtipo de sujetos con DCL.

Una última hipótesis anticipaba que las anomalías espectrales deberían ser visibles en las primeras etapas de la amiloidosis y en consecuencia podría ser elucubrado que incluso llegasen a antecederla. Es un punto muy relevante ya que permitiría comenzar a generar nuevos modelos de posibles biomarcadores para las etapas tempranas de la EA.

3.3.2 Métodos

Características de la población

La muestra del presente estudio consistió en 83 nativos japoneses diestros (56 controles (CN) y 27 pacientes con DCL). Los sujetos eran ancianos y pacientes ambulatorios en el Centro Nacional de Geriatria y Gerontología (NCGG) situado en Obu-shi, Japón. Las características demográficas pueden hallarse en la Tabla 3.9. En función del biomarcador PiB-PET, se encontró que 13 CN y 16 DCL poseían niveles significativos de acumulación de amiloide. La edad mínima en el grupo CN- fue establecida en 68 años para igualar la edad mínima de los grupos de sujetos con DCL, de manera que el grupo CN- quedó fijado en 25 sujetos. Además, tras inspeccionar los datos se descartaron otro sujeto DCL+ y un sujeto CN+ debido a que presentaban un espectro claramente ruidoso.

El criterio diagnóstico para los sujetos con DCL fue realizado conforme a los nuevos criterios diagnósticos de 2011⁶ (Figura 1.16). Consecuentemente, en esta muestra todos los sujetos con DCL fueron diagnosticados como *DCL debido a EA con certeza alta* debido a que mostraron un marcador neuropatológico positivo (PiB-PET) y uno de neurodegeneración positivo (atrofia hipocampal). Los sujetos con DCL y biomarcador de $A\beta$ negativo fueron diagnosticados como *DCL debido a EA con probabilidad baja*. Por último, los controles con marcador de acumulación de $A\beta$ positivo fueron diagnosticados como *Alzheimer preclínico en fase 1*, que se corresponde con el primer estadio de la etapa preclínica de la EA (Figura 1.15).

	CN-	CN+	DCL-	DCL+
N	25	12	11	15
Edad (años)	72 \pm 3	72 \pm 4	73 \pm 9	75 \pm 6
Sexo (M/H)	14/11	5/7	(3/8)	6/9
Educación (años)	12 \pm 3	12 \pm 3	12 \pm 2	11 \pm 3
ApoE (32/33/34/44/?)	4/16/4/0/1	0/9/3/0/0	2/8/0/0/1	0/4/11/0/0
mcSUVR	1.12 \pm 0.05	1.43 \pm 0.19	1.12 \pm 0.05	1.77 \pm 0.19
MMSE	28.60 \pm 1.38	28.75 \pm 1.14	26.73 \pm 2.97	26.20 \pm 1.70
LM I	20.36 \pm 6.40	20.33 \pm 7.39	11.00 \pm 6.08	11.27 \pm 4.76
ADAS-Jcog	5.87 \pm 2.67	5.72 \pm 2.29	9.47 \pm 3.18	9.12 \pm 2.15
VSRAD	0.69 \pm 0.42	0.54 \pm 0.19	1.12 \pm 0.70	1.24 \pm 0.49

Tabla 3.9. Descripción demográfica. M (Mujeres). H (Hombres). mcSUVR (mean cortical standardized uptake value ratio). MMSE (mini-mental state examination). ApoE (genotipo APOE). LM I&II (Puntuaciones de memoria a corto (I) y largo plazo (II) obtenidas mediante la escala de Wechsler). ADAS-Jcog (Alzheimer's Disease Assessment Scale-Cognitive Component-Japanese version). VSRAD (puntuación de atrofia hipocampal: VSRAD < 1 normal, VSRAD >1 atrofia).

Todos los participantes fueron evaluados mediante instrumentos neuropsicológicos estandarizados que incluyeron: *Mini Mental State Examination* (MMSE)⁸¹, *Cognitive Deterioration Scale* (CDS), *Alzheimer's Disease Assessment Scale Cognitive Component Japanese version* (ADAS-Jcog)⁸⁹, *Logical Memory II from the Wechsler Memory Scale-Revised* (LM2)⁸⁵, la *Geriatric Depression Scale* (GDS)⁸⁸ y la valoración Isquémica de Hachinski³⁴⁶.

Ninguno de los sujetos incluidos en este estudio se hallaba tomando medicación que pudiera afectar a la actividad MEG (incluyendo los inhibidores de colinesterasa) y tampoco estaban diagnosticados de ninguna enfermedad neurológica o psiquiátrica, con excepción del diagnóstico de DCL.

Previamente a la realización de los registros MEG, todos los sujetos firmaron un consentimiento informado donde se les explicaron todas las consideraciones tecnológicas y éticas de la investigación. El estudio fue aprobado por el Comité Ético del NCGG y de la corporación Shimadzu.

Por último, todos los sujetos llevaron a cabo los registros MEG (5 minutos de actividad basal con ojos cerrados), MRI (T1, Flair), PET (PiB y FDG) y se sometieron a un análisis de

sangre para la obtención de su perfil genético. La información sobre las características de estas pruebas se encuentra detallada en el apartado 2.3.2.

Particularidades metodológicas

Las señales MEG fueron preprocesadas como se ha indicado en la sección 2.2 y se muestra en (Figura 2.1). Además, el análisis de potencia ha sido esquematizado en la (Figura 2.4). La potencia en el grid de 2455 nodos (ver apartados 2.3.1 y 2.3.2) fue normalizada en el intervalo 1.5-55Hz. Con el objeto de reducir la información e introducir información anatómica se empleó una aproximación en regiones de interés basada en el atlas Harvard-Oxford⁵⁴. En este estudio se seleccionaron 7 ROIs (ver Tabla 3.10) que mapeaban las principales regiones de la DMN^{18,257}: la corteza medial frontal, la corteza cingulada anterior, la corteza cingulada posterior, ambos lóbulos parietales inferiores, el precuneus y el cúneus. Además se incluyó el polo occipital debido a la relevancia de las regiones posteriores en los análisis de caracterización espectral³⁵⁰.

La potencia se promedió en dichos ROIs. Los datos de partida tenían las siguientes dimensiones: 8 (ROIs) x 108 (pasos de frecuencia) x 63 (sujetos).

Abreviatura	Región de Interés	MNI (x)	MNI (y)	MNI (z)
FMC	Corteza Frontal Medial	-1	43	-17
Acc	Corteza Cingulada Anterior	2	19	25
lIPL	Lóbulo Parietal Inferior Izquierdo	-54	-48	33
rIPL	Lóbulo Parietal Inferior Izquierdo	54	-42	34
Pcc	Corteza Cingulada Posterior	0	-36	31
Pc	Precuneus	0	-60	36
Cu	Cúneus	1	-78	28
OccP	Polo Occipital	2	-94	10

Tabla 3.10. Regiones de Interés [ROIs]. Los nombres abreviados de cada ROI se muestran en la primera columna. En las últimas tres columnas se muestran las coordenadas centrales (en mm) de cada ROI en el espacio estándar.

El procedimiento de análisis estadístico es bastante similar al del primer estudio, que ha sido descrito en el capítulo 3.1. En este capítulo se trabajó buscando minimizar el efecto de la edad en los posibles resultados debido a que las edades de los grupos no estaban completamente compensadas, aunque sin llegar a mostrar diferencias significativas entre sus distribuciones en los grupos, y porque la edad es un factor clave en la deposición de amiloide como ha quedado demostrado en numerosos trabajos recientes^{4,9}. En consecuencia se aplicó un análisis basado en test ANCOVA en los que se introdujo la edad como covariable y que al tratarse de un test paramétrico requirió que la normalidad de los datos fuera asegurada mediante la transformación de los mismos con la ecuación [2.42]. Tras la transformación de los datos se aplicaron test ANCOVA para cada ROI y paso de frecuencia en dos comparaciones básicas: CN vs DCL y PiB+ vs PiB- con el objetivo de

observar que ocurriría si no se dispusiera de uno de los dos factores de clasificación de la muestra. Este punto es importante ya que hasta el momento nadie había estudiado las diferencias en los perfiles espectrales con MEG entre los grupos CN y DCL teniendo en cuenta uno de los marcadores neuropatológicos de la EA. Comprobar que en ausencia del mismo se obtenían los resultados existentes en la literatura era un paso clave. Tras asegurar que efectivamente eso se cumplía se procedió a realizar comparaciones por pares de grupos. En ambos casos, los resultados significativos extraídos del test ANCOVA fueron agrupados siguiendo un criterio de adyacencia frecuencial (al menos habían de ser significativos durante 4 pasos de frecuencia, i.e. 2Hz) y espacial (los ROIs debían ser colindantes). Estos valores fueron comprobados con el método no paramétrico basado en clústeres (ver apartado 2.4). Además, se calculó la potencia media en cada clúster y se analizaron sus posibles correlaciones, mediante el método de Spearman, con las medidas de neuropsicología y el valor mcSUVR. Las correlaciones significativas fueron comprobadas mediante un test de permutaciones (ver apartado 2.4). Por último, todos los resultados estadísticos fueron apoyados mediante la inclusión de los correspondientes tamaños de los efectos calculados con la ecuación [2.43] en la que para cada comparación se tomó como referencia el grupo teóricamente menos patológico (por orden: CN-, CN+, DCL-, DCL+)

3.3.3 Resultados

Diferencias en los niveles de mcSUVR y en la distribución del alelo APOE- ϵ 4

Los valores de mcSUVR fueron encontrados significativos en todas las comparaciones por pares de grupos salvo cuando se compararon los valores de los DCL- y los CN-. El patrón mostrado por los valores mcSUVR de cada grupo fue: DCL+ > CN+ > CN- \approx DCL-.

Respecto a la distribución del gen APOE- ϵ 4, el grupo DCL+ mostró una mayor proporción de sujetos con genotipo 34 (ver Tabla 3.9), difiriendo significativamente de los grupos CN- y DCL-. Interesantemente ningún DCL- tenía el genotipo 34.

Efecto del diagnóstico en la potencia relativa

El análisis del efecto del diagnóstico se centró en dos rangos de frecuencia con valores diferentes de manera significativa entre los grupos. Un primer rango de baja frecuencia (1.5-6.5Hz) que encajaba perfectamente con las bandas de frecuencia delta y teta, referido en el texto como LFR, y un segundo en el rango de las altas frecuencias (8.5-11Hz) que encajaba con la descripción clásica de la banda alfa y que ha sido referido HFR a lo largo del texto.

La potencia en LFR era significativamente mayor en los sujetos con DCL en comparación con los sujetos control. Dicho incremento se encontró en las regiones OccP, rIPL y el

córtex retrosplenial al completo (Pc + Pcc + Cu, denominado RSC). Por el contrario, la potencia en HFR se hallaba disminuida en los sujetos con DCL en las regiones FMC, el Cu y el OccP (Figura 3.10). En la Tabla 3.11 se muestra la descripción de los resultados estadísticos.

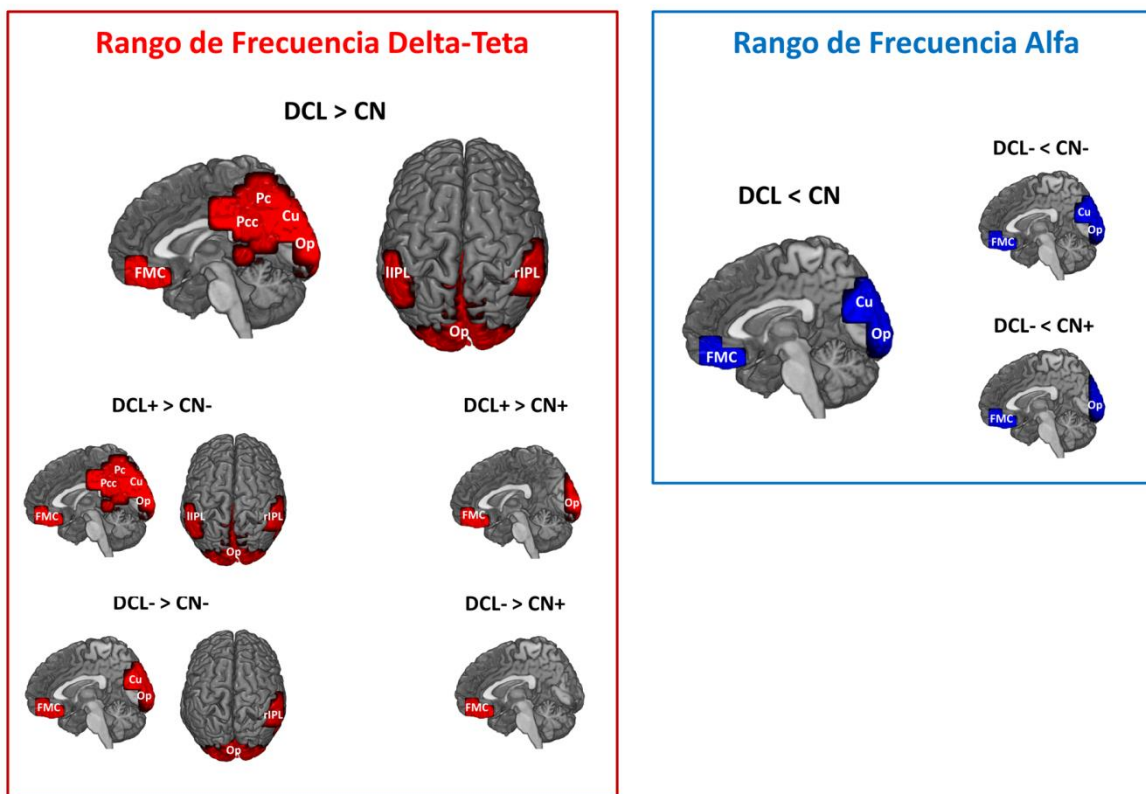


Figura 3.10. Diferencias significativas ($p < 0.05$) en potencia relativa debidas al Diagnóstico. Los ROIs resaltados en rojo muestran las diferencias entre los grupos correspondientes: sujetos ancianos sanos sin amiloidosis (CN-), sujetos ancianos sanos con amiloidosis (CN+) sujetos ancianos con Deterioro Cognitivo Leve (DCL) sin amiloidosis (DCL-), sujetos ancianos con DCL con amiloidosis (DCL+). Los valores estadísticos y las correlaciones entre la potencia relativa significativa y las puntuaciones neuropsicológicas se muestran en las Tablas Tabla 3.11 y Tabla 3.13.

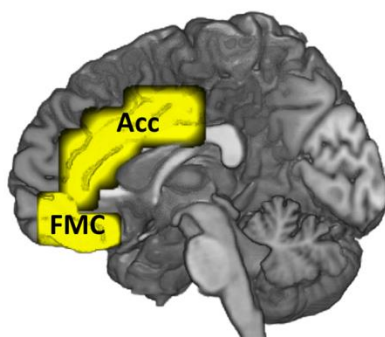
Efecto de la acumulación de $A\beta$ en la potencia relativa

El efecto principal PiB-PET discriminó un aumento de potencia en el rango HFR en la región frontal, involucrando tanto el FMC como el Acc (Figura 3.11). En la Tabla 3.12 se muestran los valores estadísticos.

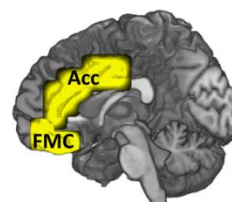
	Comparación	Rango Frecuencia	Valor p	Tamaño del Efecto
FMC	DCL vs. CN	LFR	$p < 0.001$	$\Delta = 0.97$
IPL	DCL vs. CN	LFR (θ)	$p < 0.05$	$\Delta = 0.61$
rIPL	DCL vs. CN	LFR	$p < 0.001$	$\Delta = 0.68$
Pcc	DCL vs. CN	LFR	$p < 0.05$	$\Delta = 0.64$
Pc	DCL vs. CN	LFR	$p < 0.001$	$\Delta = 0.69$
Cu	DCL vs. CN	LFR	$p < 0.001$	$\Delta = 0.87$
OccP	DCL vs. CN	LFR	$p < 0.001$	$\Delta = 0.97$
FMC	DCL vs. CN	HFR	$p < 0.001$	$\Delta = -0.87$
Cu	DCL vs. CN	HFR	$p < 0.05$	$\Delta = -0.65$
OccP	DCL vs. CN	HFR	$p < 0.001$	$\Delta = -0.83$

Tabla 3.11. Valores estadísticos de la comparación basada en el diagnóstico. La tabla indica el nombre de la comparación a la que se refieren los resultados (2ª columna), el rango de frecuencia de la comparación (3ª columna), donde LFR implica rango de baja frecuencia (1.5-6.5Hz), HFR denota rango de alta frecuencia, LFR (θ) indica que las diferencias se hallan en el segundo tramo del rango de baja frecuencia (4-6.5Hz). Las últimas dos columnas indican respectivamente el valor de p del test ANCOVA de las diferencias entre grupos y el tamaño del efecto asociado. DCL, deterioro cognitivo leve. CN, control. FMC, corteza frontal medial. IPL, lóbulo parietal inferior. Pc, precuneus, Cu, cúneus. OccP, polo occipital. Pcc, corteza cingulada posterior.

Rango de Frecuencia Alfa Sujetos PiB + > Sujetos PiB -



CN+ > CN-



DCL+ > DCL-

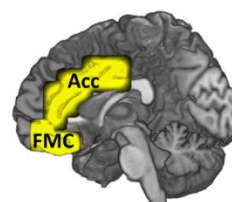


Figura 3.11. Diferencias significativas ($p < 0.05$) en potencia relativa debidas a la tenencia o no de acumulación de A β . Los ROIs resaltados en amarillo muestran las diferencias entre los grupos correspondientes: sujetos ancianos sanos sin amiloidosis (CN-), sujetos ancianos sanos con amiloidosis (CN+) sujetos ancianos con Deterioro Cognitivo Leve (DCL) sin amiloidosis (DCL-), sujetos ancianos con DCL con amiloidosis (DCL+). Los valores estadísticos y las correlaciones entre la potencia relativa significativa y las puntuaciones neuropsicológicas se muestran en la Tabla 3.12.

	Comparación	Rango de Frecuencia	Valor p	Tamaño Efecto
FMC	PiB+ vs. PiB-	HFR	$p < 0.05$	$\Delta = 0.69$
Acc	PiB+ vs. PiB-	HFR	$p < 0.05$	$\Delta = 0.72$
FMC	CN+ vs. CN-	HFR	$p < 0.01$	$\Delta = 1.14$
Acc	CN+ vs. CN-	HFR	$p < 0.05$	$\Delta = 1.01$
FMC	DCL+ vs. DCL-	HFR	$p < 0.001$	$\Delta = 1.66$
Acc	DCL+ vs. DCL-	HFR	$p < 0.005$	$\Delta = 1.07$

Tabla 3.12. Valores estadísticos de la comparación basada en la acumulación de A β . La tabla incluye los pares de grupos involucrados en cada comparación (2ª columna), el rango de frecuencia de la comparación (3ª columna), donde HFR implica rango de alta frecuencia. Las últimas dos columnas indican respectivamente el valor de p obtenido con ANCOVA de las diferencias entre grupos y el tamaño del efecto asociado. DCL, deterioro cognitivo leve. CN, control. FMC, corteza frontal medial. Acc, corteza cingulada anterior.

Comparaciones con los 4 grupos

Una vez que se estudiaron las comparaciones entre DCL y CN de la misma forma que se hubiera hecho de no disponer marcadores de, se procedió a caracterizar las diferencias en los perfiles espectrales entre cada par de grupos mediante nuevos test ANCOVA (Figura 3.10 y Tabla 3.13).

Respecto al grupo CN-: 1) los sujetos del grupo DCL+ mostraron un incremento de la potencia en LFR en toda la región RSC, y los ROIs OccP, rIPL, lIPL, y FMC; 2) el grupo DCL- tenía una mayor potencia LFR en los ROIs FMC, Cu, rIPL y OccP, acompañada de un decremento de la potencia relativa en el rango HFR en los mismos ROIs con la excepción del rIPL.

Respecto al grupo CN+: 1) el grupo DCL+ mostró un incremento de la potencia relativa en LFR en los ROIs OccP y FMC; 2) los sujetos DCL- tenían un incremento de la potencia en LFR en el FMC, acompañado de una disminución significativa en el rango HFR en los ROIs FMC y OccP.

En cuanto a las comparaciones intra-diagnóstico, donde fue el factor PiB-PET el encargado de segregar en subgrupos a la población con cada diagnóstico, se comprobó el efecto encontrado anteriormente, consistente en un incremento de la potencia relativa en la región FMC y en el Acc en los sujetos con marcador de A β positivo en comparación con sus contrapartes con acumulación de A β negativa (Figura 3.11 y Tabla 3.12).

	Comparación	Rango de Frecuencia	Valor <i>p</i>	Tamaño del Efecto
FMC	DCL+ vs. CN-	LFR (θ)	$p < 0.005$	$\Delta = 0.63$
IIPL	DCL+ vs. CN-	LFR (θ)	$p < 0.005$	$\Delta = 0.58$
rIPL	DCL+ vs. CN-	LFR	$p < 0.005$	$\Delta = 0.68$
Pcc	DCL+ vs. CN-	LFR	$p < 0.01$	$\Delta = 0.65$
Pc	DCL+ vs. CN-	LFR	$p < 0.005$	$\Delta = 0.81$
Cu	DCL+ vs. CN-	LFR	$p < 0.0005$	$\Delta = 1.04$
OccP	DCL+ vs. CN-	LFR	$p < 0.0005$	$\Delta = 1.11$
FMC	DCL+ vs. CN+	LFR (δ)	$p < 0.005$	$\Delta = 0.98$
OccP	DCL+ vs. CN+	LFR	$p < 0.005$	$\Delta = 0.99$
FMC	DCL- vs. CN-	LFR	$p < 0.005$	$\Delta = 1.22$
rIPL	DCL- vs. CN-	LFR (θ)	$p < 0.05$	$\Delta = 0.88$
Cu	DCL- vs. CN-	LFR	$p < 0.01$	$\Delta = 1.11$
OccP	DCL- vs. CN-	LFR	$p < 0.01$	$\Delta = 1.06$
FMC	DCL- vs. CN-	HFR	$p < 0.0001$	$\Delta = -1.70$
Cu	DCL- vs. CN-	HFR	$p < 0.05$	$\Delta = -0.78$
OccP	DCL- vs. CN-	HFR	$p < 0.05$	$\Delta = -0.81$
FMC	DCL- vs. CN+	LFR (δ)	$p < 0.005$	$\Delta = 1.36$
FMC	DCL- vs. CN+	HFR	$p < 0.0001$	$\Delta = -1.98$
OccP	DCL- vs. CN+	HFR	$p < 0.05$	$\Delta = -1.14$
FMC	CN+ vs. CN-	HFR	$p < 0.01$	$\Delta = 1.14$
Acc	CN+ vs. CN-	HFR	$p < 0.05$	$\Delta = 1.01$
FMC	DCL+ vs. DCL-	HFR	$p < 0.001$	$\Delta = 1.66$
Acc	DCL+ vs. DCL-	HFR	$p < 0.005$	$\Delta = 1.07$

Tabla 3.13. Valores estadísticos de las comparaciones por pares de grupos tras haber sido segregados en función del diagnóstico y la tenencia o no de acumulación de A β . La tabla incluye los pares de grupos involucrados en cada comparación (2ª columna), el rango de frecuencia de la comparación (3ª columna), donde LFR implica rango de baja frecuencia (1.5-6.5Hz), HFR denota rango de alta frecuencia, LFR (δ) indica que las diferencias se hallan en el primer tramo del rango de baja frecuencia (1.5-4Hz) y LFR (θ) que las diferencias se encuentran en el rango (4-6.5Hz). Las últimas dos columnas indican respectivamente el valor de *p* obtenido con ANCOVA de las diferencias entre grupos y el tamaño del efecto asociado. DCL, deterioro cognitivo leve. CN, control. FMC, corteza frontal medial. IPL, lóbulo parietal inferior. Pc, precuneus, Cu, cúneus. OccP, polo occipital. Pcc, corteza cingulada posterior. Acc, corteza cingulada anterior.

Análisis de correlaciones

Correlaciones entre mcSUVR y puntuaciones neuropsicológicas. Los valores de mcSUVR no mostraron guardar ninguna correlación significativa con el rendimiento cognitivo.

Correlaciones entre mcSUVR y los valores de potencia relativa significativos. El valor mcSUVR correlacionaba positivamente con la potencia relativa en LFR en el polo occipital ($p < 0.01$) y también positivamente con la potencia en HFR en la región FMC ($p < 0.01$).

Correlaciones entre los valores de potencia relativa y las puntuaciones neuropsicológicas. Los análisis realizados mostraron un patrón en el que la potencia relativa en LFR correlacionaba inversamente con el estatus cognitivo de manera que el incremento

general de potencia en los sujetos con DCL en el rango LFR parecía estar directamente asociado con el nivel de deterioro cognitivo. Por otra parte, la potencia en HFR no mostró ninguna tendencia reseñable en cuanto a su relación con el rendimiento cognitivo.

3.3.4 Conclusiones

Los resultados del presente estudio mostraron la primera evidencia de una relación entre la acumulación de $A\beta$ medida con PiB-PET y la ocurrencia de alteraciones espectrales regionales medidas con MEG.

El efecto debido al diagnóstico mostró el típico patrón de enlentecimiento descrito en la literatura en el que sujetos con DCL poseen mayor potencia en las bandas de frecuencia baja y menor en las de frecuencia alta cuando son comparados con el grupo control.

El efecto debido a la presencia o no de acumulación de $A\beta$ mostró que los sujetos PiB+, independientemente de si eran controles o sujetos con DCL, mostraron tener una mayor potencia relativa frontal en el rango alfa que los sujetos PiB-. Este fue considerado un resultado muy relevante ya que parece ser muy específico de la acumulación de $A\beta$ al darse en ambas comparaciones intra-diagnóstico. Por tanto pareció un buen candidato a biomarcador de la presencia de $A\beta$ en la etapa preclínica de la EA.

El segundo hallazgo de importancia fue descubrir que cuando los sujetos con DCL eran segregados en función de si tenían o no acumulación significativa de $A\beta$ las diferencias con respecto a los grupos control cambiaban notablemente. Mientras que el incremento de potencia en ondas lentas parecía estar relacionado con el nivel de deterioro cognitivo, el decremento de la potencia en la banda alfa pareció ser debido únicamente a la inclusión en el grupo de sujetos con DCL de los sujetos DCL-.

En definitiva, este estudio demostró la importancia de la MEG en el estudio de las etapas iniciales de la EA donde, debido a medir directamente la actividad cerebral, parece poder ofrecer una resolución única a la hora de detectar anomalías que puedan servir como biomarcadores completamente no invasivos.

3.4 El daño sináptico precede a la neurodegeneración en ancianos cognitivamente sanos con neuropatología de amiloide positiva. Estudio multimodal MEG PiB-PET

3.4.1 Objetivos e Hipótesis

En este estudio se analizaron los patrones de conectividad funcional en las principales regiones que componen la DMN durante el estado de reposo con los ojos cerrados en ancianos sin ningún indicio de deterioro cognitivo en función de la tenencia o no de una acumulación de A β significativa.

El objetivo principal consistió en evaluar la posición del daño sináptico, observado con las medidas realizadas sobre la actividad magnética cerebral, en el continuum de la enfermedad de Alzheimer. Los modelos actuales han fijado la acumulación de A β como el primer biomarcador en alcanzar una cota significativa, y esto ocurre aproximadamente unos 20 años antes del diagnóstico “cognitivo” de la EA^{3,4}. En este estudio se pretendió inferir si el daño sináptico existía en los primeros indicios patológicos de amiloidosis. Además, en caso de encontrar trazas significativas en los patrones de FC, se trataría de mostrar una nueva vía para el desarrollo de biomarcadores totalmente no invasivos y capaces de discriminar la entrada en las primeras etapas del proceso neurodegenerativo de la EA.

La hipótesis básica consistió en presuponer que la acumulación de A β afectaría la organización de la dinámica oscilatoria cerebral tanto a nivel local como en las interrelaciones de larga distancia.

Además se especuló que las anomalías funcionales, asociadas con el daño sináptico, al menos debían ser coetáneas con los primeros indicios de una acumulación de A β significativa y en todo caso que debían anteceder a la aparición de los principales rasgos de neurodegeneración: la atrofia hipocampal y el hipometabolismo en la región retrosplenial.

3.4.2 Métodos

Características de la población

La muestra del presente estudio consistió en 68 ancianos nativos japoneses diestros sin ningún indicio de deterioro cognitivo y clasificados consecuentemente como sujetos control (CN). Todos los participantes fueron reclutados por el Centro Nacional de Geriátrica y Gerontología (NCGG) situado en Obu-shi, Japón. Las características demográficas se describen en la Tabla 3.1. En función del biomarcador PiB-PET, se

encontró que 13 participantes poseían niveles significativos de acumulación de $A\beta$, dividiendo de esta manera a la población en 13 CN+ y 55 CN-.

La edad mínima en el grupo CN- fue establecida en 64 años para igualar la del grupo CN+, de manera que el grupo CN- quedó fijado en 32 sujetos.

Los controles con marcador de acumulación de $A\beta$ positivo fueron diagnosticados como *Alzheimer preclínico en fase 1*, que se corresponde con el primer estadio de la etapa preclínica de la EA (Figura 1.16).

Ningún sujeto de este estudio se encontraba tomando medicación que pudiera afectar a la actividad MEG (incluyendo los inhibidores de colinesterasa) y tampoco estaban diagnosticados de ninguna enfermedad neurológica o psiquiátrica con excepción del diagnóstico de DCL.

Previamente a la realización de los registros MEG, todos los sujetos firmaron un consentimiento informado donde se les explicaron todas las consideraciones tecnológicas y éticas de la investigación. El estudio fue aprobado por el Comité Ético del NCGG y de la corporación Shimadzu.

	CN-	CN+
n	32	13
Edad (años)	71 \pm 4	72 \pm 4
Sexo(M/H)	19/13	6/7
Educación (años)	12 \pm 3	12 \pm 3
APOE (32/33/34/24)	4/21/5/1	0/9/4/0
nTrials	47 \pm 13	40 \pm 17
mcSUVR	1.13 \pm 0.06	1.43 \pm 0.19
LM1	20.8 \pm 6.0	20.8 \pm 7.2
LM2	17.0 \pm 6.2	16.2 \pm 6.8
Valor Hipometabolismo FDG	0.50 \pm 0.28	0.47 \pm 0.18
Volumen Hipocampo Izquierdo	(2.70 \pm 0.32) $\cdot 10^{-3}$	(2.70 \pm 0.43) $\cdot 10^{-3}$
Volumen Hipocampo Derecho	(2.74 \pm 0.29) $\cdot 10^{-3}$	(2.91 \pm 0.41) $\cdot 10^{-3}$

Tabla 3.14. Descripción demográfica. M (Mujeres). H (Hombres). CN- (ancianos sanos sin amiloidosis). CN+ (ancianos sanos con amiloidosis). mcSUVR (mean cortical standardized uptake value ratio). ApoE (genotipo APOE). LM I&II (Puntuaciones de memoria a corto (I) y largo plazo (II) obtenidas mediante la escala de Wechsler). Los volúmenes de hipocampo han sido normalizados respecto al volumen total intracraneal. nTrials: número medio de trials por sujeto empleados en el estudio para cada grupo.

Por último, todos los sujetos llevaron a cabo los registros MEG (5 minutos de actividad basal con ojos cerrados), MRI (T1, Flair), PET (PiB y FDG) y se sometieron a un análisis de sangre para la obtención de su perfil genético. La información sobre las características de estas pruebas se encuentra detallada en el apartado 2.3.2.

Particularidades metodológicas

Las señales MEG fueron preprocesadas como se ha indicado en la sección 2.2 y se muestra en (Figura 2.1). Además, el análisis de FC ha sido esquematizado en la (Figura 2.5). Dicho análisis se realizó sobre los 2455 nodos del grid de 1 cm explicado en el apartado 2.3.1. Con el objeto de reducir la información e introducir información anatómica se recurrió al atlas Harvard-Oxford⁵⁴. En este estudio se seleccionaron los 6 principales regiones que conforman la DMN y que han mostrado ser ampliamente afectadas por la acumulación de $A\beta^{18,19}$. Estas regiones (ROIs) eran: precuneus (Pc), las cortezas cinguladas posterior (Pcc) y anterior (Acc), los dos lóbulos parietales inferiores (lIPL y rIPL) y el córtex medio prefrontal. (FMC). Para el análisis de la FC se utilizaron únicamente aquellos nodos que estaban incluidos en alguno de estos ROIs con al menos un 25% de probabilidad. En total, en este estudio se analizaron los patrones de conectividad funcional de 156 nodos localizados en el seno de la DMN.

La FC se calculó entre todos los nodos mencionados se evaluó para cada una de las bandas de frecuencia siguientes: delta (2-3.9 Hz), teta (4.1-7.9 Hz), alfa (8.1-11.9 Hz), beta (12.1-29.9 Hz) and Gamma (30.1-55.0 Hz).

El procedimiento de análisis estadístico consistió en dos etapas diferenciadas que se aplicaron para cada banda de frecuencia por separado. En la primera se analizó el efecto de la acumulación de $A\beta$ en la conectividad funcional intra-ROI. Y en la segunda, se analizó la FC de las regiones que presentaron una FC intra-ROI significativa, con el resto de la DMN. En ambos casos la FC se analizó mediante el estudio de todos los links que involucraban a los nodos pertenecientes a los ROIs correspondientes a cada comparación. Es decir, en el análisis intra-ROI la red analizada fue la constituida por todos los links que conectaban los nodos situados dentro de cada ROI, y en el análisis inter-ROIs la red a estudiar era la compuesta por todos los links que conectaban nodos situados en ambos ROIs. Las redes significativas, cuyas características se explicarán a continuación, fueron denominadas *motifs* en consonancia con la literatura de la Teoría de Sistemas Complejos³⁴⁹.

Para que una red fuera considerada significativa debía satisfacer las siguientes condiciones: 1) los links que la conformaban debían presentar diferencias significativas ($p < 0.001$) calculadas mediante un test Mann-Whitney entre los valores de los grupos CN+ y CN-; 2) la dirección de las diferencias de FC entre ambos grupos debía ser la misma, es decir, se tenía que cumplir que el *signo* ($PLV_{link,CN+} - PLV_{link,CN-}$) = *cte*; 3) los motifs debían involucrar al menos un 25% de los nodos de los ROIs correspondientes; 4) los motifs habían de estar compuestos por al menos un 10% de todos los posibles links entre sus nodos; 5) el valor medio de FC de cada motif debía estar significativamente

correlacionado con el valor de mcSUVR en la población total, y además, el signo de la correlación debía mantenerse en las correlaciones con los grupos por separado, aunque en este caso las correlaciones no tenían por qué ser significativas; 6) el motif debía superar un test no paramétrico basado en clústeres (ver apartado 2.4), en el que se tenían en cuenta todos los links del mismo.

Cada motif, fue caracterizado mediante el valor medio de FC de todos sus links. Para poder “medir” la relevancia de las diferencias encontradas, dichos valores fueron cotejados con un nuevo test estadístico ANCOVA en el que se introdujo la edad como covariable, aunque en este estudio esa variable estaba completamente compensada en ambos grupos. Además, se calcularon los tamaños del efecto correspondiente mediante la ecuación [2.43], y se aplicó un método de clasificación mediante un análisis de regresión logística corregido con el procedimiento *leave-one-out-cross-validation* de la misma manera en que fue empleado en⁴⁸. Los valores medios de FC fueron también utilizados en los análisis de correlación, calculados mediante Spearman, con el valor de mcSUVR y las puntuaciones neuropsicológicas. Las correlaciones significativas fueron chequeadas mediante nuevos test de permutaciones. Por último, se calcularon los centros de masa de cada volumen conformado por los nodos pertenecientes a cada motif.

3.4.3 Resultados

Análisis de la FC Intra-ROI

Este análisis se realizó para cada uno de los 6 ROIs incluidos en el estudio pero únicamente el precuneus mostró tener una subred (motif) con una FC diferente significativamente entre ambos grupos. En particular se observó que los sujetos CN+ tenían una menor FC en la banda delta (Figura 3.12). Además, el valor medio de FC del motif correlacionaba en toda la población significativamente ($\rho = -0.47$) con el valor de mcSUVR. Los valores estadísticos y el centro de masa del motif se muestran en la Tabla 3.15.

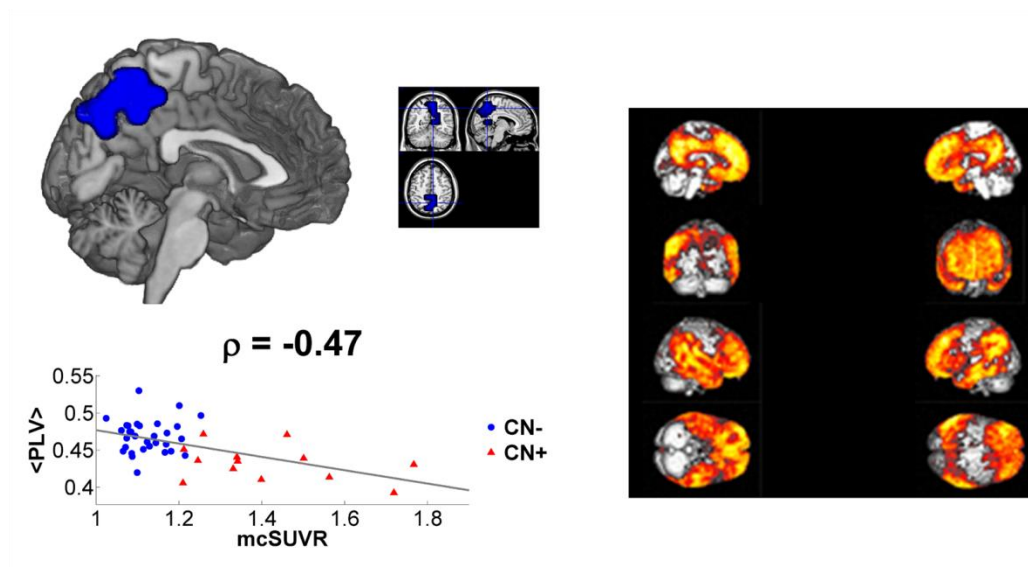


Figura 3.12. Conectividad funcional alterada a nivel Intra-Precuneus. El ROI resaltado en azul muestra la subred contenida en el precuneus con un decremento significativo ($p < 0.05$) en el grupo CN+ (ancianos sanos con amiloidosis), comparado con el CN- (ancianos sanos sin amiloidosis). El scatter muestra la correlación significativa entre el valor de FC medio de la subred y el valor mcSUVR ($\rho =$ valor rho Spearman). En la figura de la derecha se muestra la distribución de amiloide que correlacionaba significativamente con el valor de FC medio de la subred.

Análisis de la FC entre el Precuneus y el resto de ROIs de la DMN

En la segunda parte del análisis se estudiaron todos los posibles links entre el Pc y el resto de los ROIs que integran la DMN. Se encontró que los CN+ poseían una mayor FC en las conexiones entre el Pc y ambos lóbulos parietales inferiores, y especialmente con el derecho pues dicha hipersincronización fue hallada en todas las bandas de frecuencia, mientras que la conectividad alterada entre el Pc y el IIPL únicamente alcanzó el nivel de significación en la banda teta (Figura 3.13). De nuevo el valor de FC medio de cada motif correlacionó significativamente con el valor mcSUVR en toda la población. Los valores estadísticos y los centros de masa de cada motif se muestran en la Tabla 3.15.

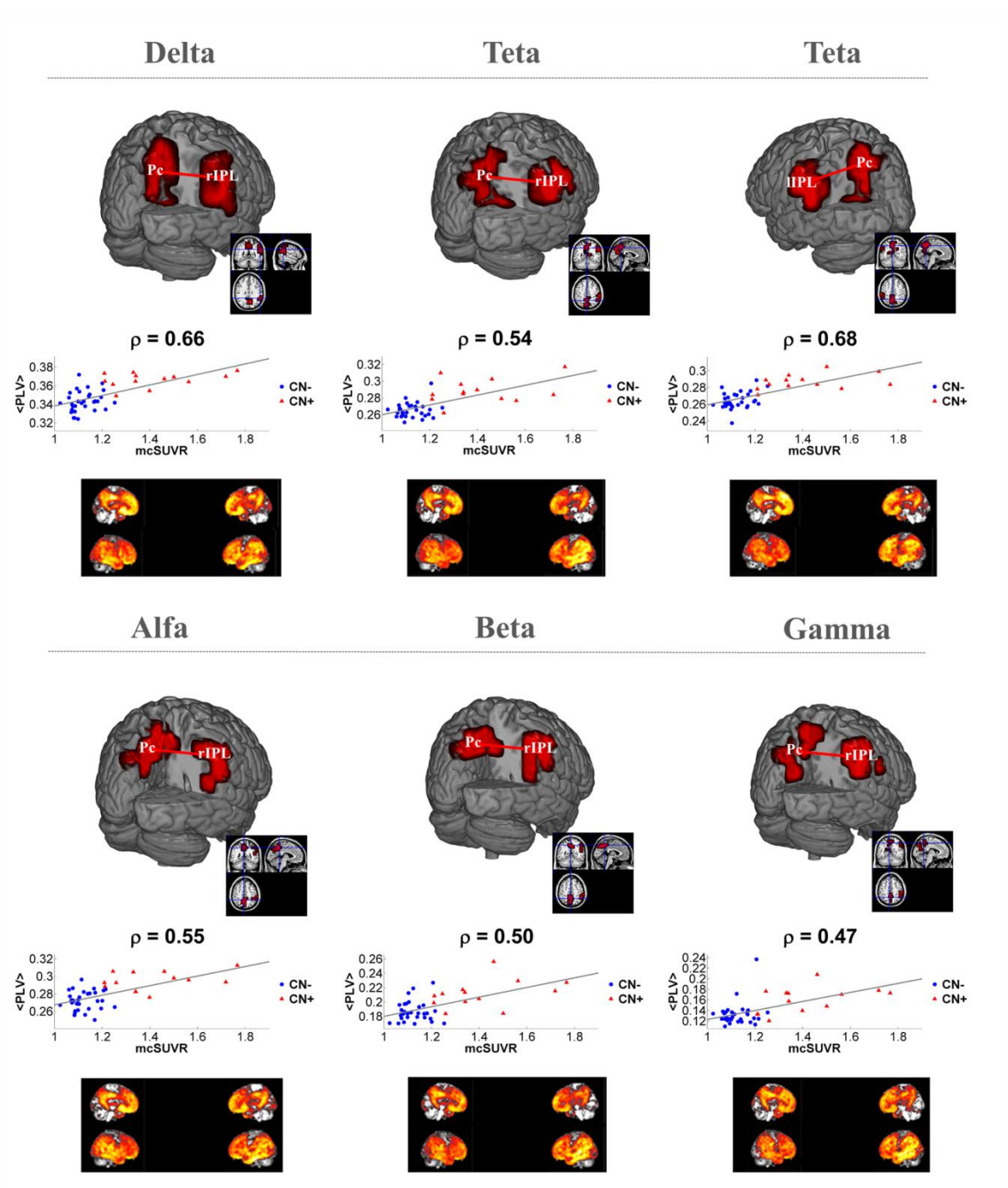


Figura 3.13. Conectividad funcional alterada con el Precuneus. Los ROIs resaltados en rojo muestra un incremento de FC significativo ($p < 0.05$) en el grupo CN+ (ancianos sanos con amiloidosis), comparado con el CN- (ancianos sanos sin amiloidosis). El scatter muestra la correlación significativa entre el valor de FC medio de la subred entre ambos ROIs y el valor mcSUVR (ρ = valor rho Spearman). En cada figura inferior se muestra la distribución de amiloide que correlacionaba significativamente con el valor de FC medio de la subred correspondiente.

Motif	Tamaño del Efecto	Ancova (covariable edad)	Precisión	Coordenadas (MNI, en mm)
Delta Intra-Pc	$\Delta = -1.7$	$p < 1.8e-05$	76%	Pc [4 -59 41]
Delta Pc-rIPL	$\Delta = 2.2$	$p < 4.2e-08$	87%	Pc [1 -59 40] rIPL [55 -46 30]
Theta Pc-rIPL	$\Delta = 2.6$	$p < 6.5e-08$	91%	Pc [0 -60 38] rIPL [57 -38 39]
Theta Pc-lIPL	$\Delta = 2.3$	$p < 2.1e-05$	87%	Pc [-3 -58 42] lIPL [-57 -42 37]
Alpha Pc-rIPL	$\Delta = 2.1$	$p < 8.7e-08$	80%	Pc [0 -57 44] rIPL [54 -43 35]
Beta Pc-rIPL	$\Delta = 1.8$	$p < 2.7e-05$	82%	Pc [-3 -60 44] rIPL [53 -43 36]
Gamma Pc-rIPL	$\Delta = 1.3$	$p < 7.0e-04$	87%	Pc [-5 -61 41] rIPL [55 -39 41]

Tabla 3.15. Resultados estadística del análisis de FC. A la izquierda se muestra el nombre de los ROIs implicados en cada resultado. La segunda columna muestra el tamaño del efecto y la tercera el valor de p para el test ANCOVA entre grupos con edad como covariable. La 4ª columna indica el resultado obtenido en la clasificación para cada valor de FC, obtenido mediante un análisis de regresión logística corregido con el procedimiento leave-one-out-cross-validation. En la última columna se muestran las coordenadas centrales de los ROIs implicados en cada resultado. Todos los resultados han sido comprobados con un test no paramétrico basado en clústeres. IPL, lóbulo parietal inferior.

3.4.4 Conclusiones

Este trabajo trató de esclarecer el efecto sobre la actividad electromagnética cerebral del inicio de la acumulación de A β patológica. Se estudiaron las diferencias funcionales en la principal red cerebral de la actividad en reposo con ojos cerrados y se han hallado indicios de que como mínimo las alteraciones en la FC coexistían con el inicio de la patología de amiloide en una etapa en la que no existía ningún indicio de deterioro cognitivo.

Se encontró que el A β parecía afectar a la integridad funcional local del precuneus en la banda delta. Este resultado apuntalaba la idea de la existencia de una vulnerabilidad selectiva ante el inicio de una neuropatología en las regiones con mayor actividad, los comúnmente denominados *hubs*. En este estudio, a esos rasgos neuropatológicos se añadieron los funcionales en el principal *hub* de la DMN.

Sin embargo, la disrupción sináptica que parecía subyacer a la acumulación de A β dio la impresión de generar mecanismos compensatorios que consistían en un aumento de la FC en los sujetos del grupo CN+. La hipersincronización en sujetos control con biomarcador de amiloide positivo ha sido ampliamente descrita en la literatura relacionada, sin embargo este estudio es el primero que lo ha descrito con técnicas de electrofisiología que son, a priori, ideales para estudiar dicho efecto al ser capaces de medir la actividad cerebral directamente.

Un factor muy relevante fue que los patrones de FC significativos aparecieron antes de que existiese ninguno de los rasgos principales de neurodegeneración, es decir, la ocurrencia de atrofia hipocámpal y la aparición de hipometabolismo en la región retrosplenial. Es quizás este uno de los puntos más interesantes, pues la hiposincronización intra-Pc antecedió a la aparición de hipometabolismo y por ello fue posible pensar establecer cierta causalidad. Por otro lado, la ausencia de un biomarcador para la agregación de la proteína tau nos impidió generar un modelo más completo pero al menos se pudo afirmar que la FC era una seria candidata a convertirse en una fuente de biomarcadores no invasivos en las primeras etapas de la EA, precisamente donde más es necesario con el fin de al menos retrasar su proceso neurodegenerativo.

4- Discusión General

En la presente tesis se han llevado a cabo 4 estudios en los que se ha estudiado el efecto pernicioso del alelo APOE- ϵ 4, el principal factor de riesgo genético de la EA¹², y la acumulación de β -amiloide, junto con tau uno de los dos marcadores neuropatológico de la EA³⁰⁶, en la actividad cerebral. Para ello se ha empleado la MEG cuyas características permiten medir directamente dicha actividad con una resolución temporal inigualable y una notable resolución espacial⁵². Además se ha dispuesto de la MRI de todos los sujetos incluidos en los estudios de esta tesis y en la mitad de los trabajos, en aquellos que analizan la influencia de A β , se ha tenido acceso a registros FDG-PET y PiB-PET³⁵¹. De esta forma, mediante el estudio de la actividad en fuentes electromagnéticas, calculadas con Beamformer⁵³, en el espacio normalizado MNI³⁵², se han podido llevar a cabo diversos contrastes entre poblaciones con diferente riesgo o grado de neuropatología de la EA. En particular, se han empleado dos aproximaciones diferentes pero complementarias: la caracterización espectral⁵⁵, y la conectividad funcional^{51,353} de la actividad en reposo con ojos cerrados del cerebro. Dicha actividad es muy estudiada hoy día, debido a que su deterioro está asociado con la eficiencia, y también con el daño, en diversas funciones cognitivas^{354–356} y con la existencia de numerosos procesos neuropatológicos^{36,131,357,358}. Es la actividad cerebral consciente más fácilmente registrable, al no exigir una demanda cognitiva reseñable ni, por ejemplo, unas mínimas capacidades visuales o auditivas. Además, su distribución espectral es una de las trazas electromagnéticas más sólidas de la neurofisiología³⁵⁹, y sus alteraciones han sido relacionadas profusamente con el daño cognitivo asociado a la EA^{26,55}. La caracterización espectral refleja la actividad emergente de los engramas neuronales pero por si misma no captura las interacciones dinámicas que se dan entre ellos. Y es ahí, precisamente donde la FC se torna en una herramienta fundamental. Día a día existe un mayor consenso sobre la importancia de la sincronización como fenómeno primordial en las comunicaciones entre las diversas redes cerebrales. Dicha sincronización a menudo conlleva un acoplamiento entre las fases de las actividades oscilatorias cerebrales y puede ser evaluada mediante la FC^{262,360}. La FC estima dichos acoplamientos mediante el cálculo de la dependencia estadística entre cada par de señales electrofisiológicas³²⁸. Este enfoque estudia el cerebro como un sistema complejo, formado por numerosas redes neuronales con una alta plasticidad, donde la FC refleja las comunicaciones tanto dentro de cada propia red como entre ellas. Por ello, la disrupción de la transmisión sináptica, la pérdida neuronal o la degeneración de los tractos de sustancia blanca son algunos de los procesos neuropatológicos que pueden afectar la capacidad de integrar información proveniente desde diferentes regiones cerebral y en consecuencia afectar a la FC. De entre todas las redes cerebrales, la DMN²⁰ es la más estudiada precisamente por ser la red fundamental del estado basal. Esta red es clave en

los estudios con neuroimagen de la EA ya que las alteraciones en sus niveles estructurales y dinámicos parecen estar fuertemente asociadas con el grado de eficiencia del cerebro entendido como un sistema complejo^{19,132,276,349}. El hecho de la existencia de una vulnerabilidad selectiva en regiones de la DMN³²⁷, parece ser debido a la relación existente entre una mayor actividad cerebral y la integridad estructural de la región que sostiene dicha actividad. Por ejemplo, se ha descrito una relación directa entre el aumento de actividad en una región y el incremento de la acumulación de placas de $A\beta$ ⁵⁰, y también de una relación inversa entre la FC en una región y su concentración de $A\beta$ ^{22,23}. De esta forma, se llega a la premisa fundamental de esta tesis; el estudio de la integridad de la actividad electromagnética cerebral, por tanto una medida directa de la actividad neuronal, en función de la integridad de su sustrato biológico. A continuación se discuten los principales resultados hallados en cada caso.

4.1 Caracterización espectral de la influencia del alelo APOE- ϵ 4

Los resultados del estudio (ver apartado 3.1) de la influencia del alelo APOE- ϵ 4 han mostrado que los sujetos DCL tenían un incremento significativo de la potencia relativa en frecuencias bajas junto a un decremento en frecuencias altas. En especial, los portadores del alelo APOE- ϵ 4 mostraron un incremento de la potencia en el rango 4.5-6.5Hz en el SFG. Este patrón apareció tanto en los controles como en los DCL con lo que podría estar sugiriendo que ser portador contribuye al “enlentecimiento” de la actividad MEG. Sin embargo, en contra de lo que se esperaba, no se encontraron diferencias debidas al alelo APOE- ϵ 4 en el rango de alta frecuencia. Por último, se observó que una mayor potencia en el rango de baja frecuencia correlacionaba de manera inversa con el rendimiento cognitivo en toda la población, mientras que una mayor potencia en el rango de alta frecuencia se correspondía con un mejor estado cognitivo.

El patrón de “enlentecimiento” y el sentido de las correlaciones significativas observado en los sujetos DCL ha sido ampliamente descrito en la literatura^{26,55,350,361,362}. De hecho, en un estudio reciente con la misma población³⁶³ se describió, en el espacio de sensores, un aumento generalizado de la potencia teta en los sujetos con DCL. Siendo este efecto acompañado por un decremento en las bandas alfa y beta en las regiones frontal, temporo-parietal y occipital. La mayoría de los estudios citados justifican la ocurrencia del “enlentecimiento” mediante la hipótesis de la existencia de un déficit colinérgico. La gravedad de ese déficit ha sido relacionada con la tenencia del alelo APOE- ϵ ^{428,56}, lo que podría explicar el efecto mostrado por los portadores del alelo APOE- ϵ 4 con independencia de su diagnóstico y justificar el aparente “enlentecimiento” extra aparecido en los sujetos DCL³⁶⁴. Además, a la hora de explicar el incremento de potencia frontal hallado en los portadores, es necesario tener en cuenta la fuerte relación que existe entre ser portador del alelo APOE- ϵ 4 y una mayor probabilidad de desarrollar

amiloidosis¹⁰, y que la región frontal parece mostrar una acentuada vulnerabilidad a la acumulación de A β , especialmente en el inicio de ésta^{18,24}. Por otra parte existe una cierta relación entre la tenencia del alelo APOE- ϵ 4 y una pérdida de integridad de la materia blanca^{365,366}, mediada a través de la influencia del alelo en la construcción de la vaina de mielina³⁶⁷. Este hecho parece importante ya que la materia blanca es clave en la eficiencia de la sincronización de la actividad entre diferentes grupos de neuronas³⁶⁸, que dicha sincronización es uno de los mecanismos que subyacen a la generación de las señales medibles por las técnicas de electrofisiología³⁶⁹, y sin olvidar que un daño en la materia blanca está directamente relacionado con un aumento de la actividad de baja frecuencia²⁶⁸. En definitiva este estudio ha mostrado que el alelo APOE- ϵ 4 afecta a la actividad basal tanto en sujetos con DCL como a controles, y que lo hacía de una forma tal que acentuaba el efecto típico mostrado en las etapas tempranas de la EA.

4.2 Caracterización dinámica de la influencia del alelo APOE- ϵ 4

En este estudio (3.2) se evaluó el impacto de la tenencia del alelo APOE- ϵ 4 en la organización funcional de la actividad basal del cerebro en sujetos con DCL y controles. Los sujetos con DCL mostraron una hiposincronización en alfa y beta1 en la conectividad media de ambos lóbulos parietales inferiores e hipocampos. Por otro lado, los portadores del alelo APOE- ϵ 4 manifestaron un decremento de la FC antero-posterior en la banda delta. Y por último, en el efecto interacción se descubrió que la región fronto-temporal derecha mostró albergar en las bandas de frecuencia delta y teta un mecanismo de carácter compensatorio, consistente en que los CN34 mostraban hipersincronización y los DCL34 hiposincronización. En ambos casos las alteraciones de FC eran referidas respecto a los sujetos no portadores del alelo APOE- ϵ 4.

El decremento de FC dentro de la DMN es uno de los efectos mejor descritos en la neuroimagen actual³⁴⁻³⁷, del mismo modo que también lo es la relación entre la FC en la banda alfa con el rendimiento cognitivo³⁵⁶. Generalmente estos decrementos se han justificado desde la existencia de un daño en el sistema colinérgico que afectaría fundamentalmente a las bandas de frecuencia alta^{134,135}. Además, los resultados de este estudio involucraban ambos hipocampos y éstos han sido descritos como las primeras áreas en verse afectadas en la EA, desde los que la patología (fosforilación y agregación de tau) se propaga hacia las regiones parietales³⁷⁰. Los resultados encajaban con estudios previos en los que se han estudiado las alteraciones en la FC de los hipocampos en sujetos con DCL, controles e EA^{371,372}.

El efecto APOE- ϵ 4, aparece únicamente en la banda delta y consistía en un decremento de la FC de larga distancia entre las regiones frontales y occipitales. Este resultado parecía estar en la línea de los estudios que han afirmado precisamente que la FC de larga

distancia podría ser uno de los marcadores electrofisiológicos de la EA³⁷³, especialmente en la región occipital³⁷⁴. Además, el rol de las regiones frontales en las primeras etapas de la acumulación de amiloide está hoy más en boga que nunca^{18,24}, de forma que esta hiposincronización podría estar reflejando precisamente el inicio o desarrollo de amiloidosis.

Por último, en el efecto de la interacción se encontró una región en el hemisferio derecho compuesta por el fronto-orbital y el polo temporal que mostraban lo que parecía ser un mecanismo de carácter compensatorio en delta y teta. Los controles CN34 mostraron tener una mayor FC a la vez que los DCL34 veían disminuida su FC, en ambos casos con respecto a los sujetos no portadores del alelo APOE-ε4. El FOC ha sido descrito como una de las regiones más importantes en el desarrollo de la patología de Aβ, especialmente en el inicio de esta²⁴. Y dada la fuerte relación entre la tenencia del alelo APOE-ε4 y el desarrollo de placas de amiloide¹⁰, parece factible suponer cierta causalidad, especialmente teniendo en cuenta el efecto del alelo APOE-ε4 en la red hipocampal anterior³⁸ y que los portadores del alelo posean una mayor acumulación de amiloide en la región prefrontal⁴⁰. Además el hecho de que el mecanismo compensatorio apareciese en el hemisferio derecho podría ser una consecuencia de la aparente mayor acumulación de Aβ que tiene lugar en el hemisferio izquierdo³⁷⁵.

4.3 Caracterización espectral de la influencia de la acumulación de Aβ

En este capítulo (3.3) se ha estudiado como afecta a la actividad espontánea cerebral la existencia de una acumulación de Aβ significativa. Los resultados obtenidos señalaban la posibilidad de que dos de los principales rasgos electrofisiológicos comúnmente reportados en la literatura como parte de un mismo proceso de “enlentecimiento”, pudieran tener una base neuropatológica distinta. Mientras que el incremento de la potencia en ondas lentas pareció estar relacionado con el declive cognitivo, el decremento de la potencia en ondas rápidas, y más concretamente en la banda alfa, parecía ser principalmente un efecto debido a los sujetos DCL sin acumulación de Aβ.

En el efecto del diagnóstico los resultados mostraron el típico patrón consistente en un incremento de la potencia relativa de ondas lentas en la región posterior^{59,350,362,376} en los sujetos con DCL, mientras que el efecto debido a la acumulación de Aβ se centró en la existencia de un incremento de la potencia relativa en el rango de alfa en la región frontal en los sujetos con PiB+. Uno de los efectos más interesantes se halló al analizarse las comparaciones por pares de grupos como si cada grupo fuera una entidad diagnóstica diferenciada, como de hecho ocurre en el marco establecido por los nuevos criterios diagnósticos^{5,6}. En dichas comparaciones, se observó que el decremento de la potencia relativa en el rango alfa aparecía únicamente en las comparaciones que involucraban el

grupo DCL-, mientras que el incremento de potencia en ondas lentas se hallaba, en mayor o menor medida, siempre presente en las comparaciones entre los grupos control y DCL.

La relación entre la presencia de placas de A β y la aparición de alteraciones espectrales no ha sido aclarada hasta el momento. Por ejemplo, en un estudio realizado con LCR³⁷⁷, se describió que la potencia teta correlacionaba positivamente con los marcadores de tau pero no con los de A β pero que cuando se trabaja con ratios, el obtenido mediante el cociente tau/A β se hallaba fuertemente correlacionado con dicha potencia. En este estudio los autores justificaron su hallazgo asumiendo que las correlaciones con tau indicaban que el incremento de potencia en baja frecuencia, comúnmente asociado con un declive cognitivo, podría estar asociado con el avance de la neurodegeneración, de la que tau es uno de los principales biomarcadores.

El efecto PiB encontrado consistió en un incremento de la potencia alfa. Esto podría estar relacionado con otro de los patrones típicos encontrados en envejecimiento, donde ha sido ampliamente descrita una “anteriorización” de la potencia alfa^{58,59,266}. Este patrón, consistente en un “desplazamiento” del origen de la potencia alfa, ha sido descrito⁵⁷ como uno de los mejores predictores de conversión desde el estado DCL a la EA. El incremento de potencia descrito en este estudio no correlacionaba significativamente con el rendimiento cognitivo, aunque sí con el nivel de concentración de A β . De hecho, la literatura relacionada establece que la presencia de A β no conllevaba irremediamente un daño cognitivo, si no que éste parece deberse a la existencia de neurodegeneración³⁷⁸.

4.4 Caracterización dinámica de la influencia de la acumulación de A β

En el cuarto estudio (3.4) se ha analizado el efecto de la acumulación significativa de A β en la organización funcional de la actividad en reposo con ojos cerrados en ancianos sin indicios de deterioro cognitivo ni de neurodegeneración medida a través de la estimación de la atrofia hipocampal o de la existencia de un hipometabolismo en la región retrosplenial medido con FDG-PET. El punto fuerte de este estudio fue aunar toda esa información con la medida directa de la actividad neuronal proporcionada por la MEG, de manera que se pudieran asociar los resultados con el daño sináptico que parece ocurrir al inicio de la EA. El estudio se enfocó en la caracterización de la FC en la DMN y se llevó a cabo en dos niveles. Primero, se estudiaron las posibles alteraciones funcionales en el nivel local (intra-Pc) donde se encontró que los sujetos CN+ mostraban una hiposincronización en la banda delta. Segundo, se evaluó la FC en el nivel inter-ROI donde se descubrió la existencia en los sujetos CN+ de una fuerte hipersincronización entre el precuneus y ambos lóbulos parietales inferiores, especialmente con el derecho. En ambos casos los valores de FC correlacionaron fuertemente con la concentración de A β cuantificada con el valor mcSUVR.

El primer resultado, como ya se ha explicado consistió en la aparición de una hiposincronización intra-precuneus en los sujetos CN+. Este efecto casaba muy bien con la literatura existente en ancianos sin daño cognitivo alguno⁴¹⁻⁴⁵. Y también con estudios realizados con roedores que han descrito la existencia de una relación entre el aumento de la concentración de A β y el subsiguiente decremento de la FC^{22,23}. De hecho en el segundo estudio se señaló que el daño sináptico, medido a través de la FC, parecía anteceder a la acumulación de A β .

El segundo resultado describió una fuerte hipersincronización entre el precuneus y las regiones parietales inferiores. Este efecto concuerda con la literatura similar previa^{41,45,48,49}, aunque dicha literatura no ha sido llevada a cabo con MEG. En todos los estudios la presencia de hipersincronización se ha justificado como un mecanismo compensatorio, ya que los sujetos no mostraban ningún daño cognitivo a pesar de tener una patología de amiloide subyacente. Este efecto podría estar ocasionado por el daño de la integridad funcional de la DMN, debido a la notable vulnerabilidad selectiva que la región del precuneus muestra en la EA^{288,327}, o a una pérdida de la eficiencia de las comunicaciones entre los distintos ROIs^{49,287}. De hecho, tanto el Pc como ambos IPLs han sido descritos como el núcleo de la DMN y solapan casi perfectamente con el patrón de distribución de la acumulación de A β ^{18,19,24,327,379}.

Un último factor a tener en cuenta es la llamada “diasquisis”³⁸⁰. Un concepto similar al conocido “efecto mariposa” consistente en que el daño en una región puede generar patrones anómalos en regiones lejanas y a priori no conectadas con la primera. Esta “no linealidad” se podría aplicar en este estudio de la siguiente manera: 1) la acumulación de A β afecta a nivel local, por ejemplo debido a una disminución de la inhibición sináptica^{47,381}; 2) la ocurrencia de esa anomalía local podría modular las comunicaciones entre la región en la que se halla la placa y otras regiones de la red^{41,274}; 3) esas otras regiones al comunicarse entre ellas podrían mostrar algún tipo de alteración, y de ser el caso en que sólo pudiéramos ver precisamente esas variaciones, nos encontraríamos en una situación que sería difícil de justificar de una manera acertada.

Conclusiones

La principal conclusión de esta tesis es que la MEG es una herramienta clave para medir los cambios en la actividad neuronal que reflejan el desarrollo de un proceso neuropatológico subyacente. Para llegar al punto de poder estudiar dichas alteraciones ha sido necesario desarrollar numerosas herramientas de análisis, particularizadas para el estudio de la actividad basal con ojos cerrados, ya que el tratamiento de señales MEG no está estandarizado. En los últimos 20 años la neurociencia ha evolucionado notablemente, absorbiendo e integrando conocimiento procedente de numerosas disciplinas. Entre ellas la física ha ocupado un lugar preponderante pues el cerebro, al fin y al cabo, es un complejo sistema biológico electromagnético. La base de esta tesis y sin duda alguna la parte que más tiempo ha consumido es la implementación de las metodologías finalmente utilizadas para el preprocesamiento, la transformación de los datos MEG en sensores al espacio de fuentes generadoras, y en especial de los análisis realizados en éste último espacio. Este proceso ha requerido estudiar en detalle las características de las señales neuromagnéticas, desde su magnitud y distribución espectral hasta sus dinámicas temporales y espaciales. En particular, la piedra angular sobre la que se ha asentado todo el edificio teórico ha sido el perfil específico de la distribución espectral que, muy probablemente, es el resultado más sólido y replicable de la electrofisiología. Además, la solución del problema inverso ha sido un paso esencial en el necesario proceso de estandarización del estudio. Resolver esta cuestión ha permitido trabajar en el espacio de coordenadas universal y gracias a ello se ha podido poner en común la información obtenida mediante otras modalidades de neuroimagen con la MEG. Sin embargo, es un problema altamente indeterminado ya que se resuelven 3000 fuentes a partir de 102 sensores y alcanzar el punto necesario de solidez y replicabilidad ha requerido de un gran esfuerzo multidisciplinar. Por último, se han desarrollado numerosas herramientas de análisis, centradas en un primer momento en la reducción de las dimensiones del problema, y en la caracterización estática y dinámica de la actividad cerebral posteriormente. Esta última se ha centrado en el desarrollo de una metodología fiable, particularizada a la MEG, para la estimación de la conectividad funcional en el espacio de fuentes. En definitiva, esta tesis presenta un trabajo multidisciplinar, con una base metodológica construida desde la biofísica y la ingeniería y puesta a punto para investigar uno de los principales retos de la neurociencia actual.

En los estudios comprendidos en esta memoria, se han estudiado el principal factor genético de vulnerabilidad a la EA y uno de los dos marcadores neuropatológicos de la EA. En ambos casos se ha sido capaz de aportar información que ayude al futuro

establecimiento de biomarcadores relacionados con el daño sináptico que parecen acontecer en el inicio del proceso neuropatológico.

Ambos tipos de análisis, tanto el de la distribución espectral como el de la organización funcional, de la actividad electromagnética en estado basal con ojos cerrados han demostrado ser capaces de percibir cambios en poblaciones sin deterioro cognitivo, mostrando en la mayoría de los casos una acentuación de esos mismos cambios en poblaciones patológicas, formadas por sujetos con DCL. De una forma más específica los principales hallazgos de esta tesis son:

Se ha comprobado la ocurrencia de los dos principales efectos del desarrollo de la EA mostrados en la literatura de electrofisiología. El primero es el “enlentecimiento” de la actividad cerebral en los sujetos con DCL consistente en un incremento de la potencia en ondas lentas y de una disminución de la misma en alta frecuencia. El segundo es la disminución de FC que sujetos DCL muestran en el seno de la DMN.

El alelo APOE- ϵ 4 parece acentuar, posiblemente mediante la facilitación de la amiloidosis, el rol de las regiones frontales en el desarrollo inicial de la EA. En particular: 1) el giro superior frontal muestra un aumento de la potencia teta en los sujetos portadores del alelo APOE- ϵ 4; y 2) la región fronto-orbital derecha, incluyendo también el polo temporal, muestra un patrón de FC en las bandas alfa y teta compatible con un mecanismo de compensación. Dicho patrón consiste en una hipersincronización en los CN34 y una hiposincronización en los DCL34, ambas respecto a los sujetos con genotipo de APOE 33.

El estudio del efecto de la acumulación de A β en la distribución espectral de la actividad basal cerebral ha arrojado tres resultados principales: 1) la acumulación de A β ha demostrado ser un factor a tener en cuenta en los análisis que involucran sujetos con DCL ya que parece ser que el comúnmente descrito decremento de la potencia alfa parece ser fundamente debido a los sujetos DCL sin amiloidosis; 2) El incremento de potencia en las bandas de frecuencia delta y teta parece ser el más relacionado con el declive cognitivo y aparece de manera significativa en todas las comparaciones DCL vs CN con independencia de si presentan un biomarcador de amiloide positivo o no; 3) la acumulación de A β parece estar relacionada con un aumento de la potencia en la región frontal, concretamente en el córtex medio frontal y en la corteza cingulada anterior. Este efecto aparece con independencia del estado cognitivo ya que es visible tanto en controles CN+ como en DCL+.

Por último se ha descrito con detalle el efecto de la acumulación de A β en la integridad funcional del precuneus. Parece existir una hiposincronización a nivel local en la banda delta acompañada de una hipersincronización entre las actividades del precuneus y ambos

lóbulos parietales inferiores, pero mucho más acentuada en el caso del derecho. Este efecto aparece en los controles con marcador de amiloide positivo en ausencia de ningún otro indicio neuropatológico y asienta la hipótesis de que el daño cognitivo al menos coexiste con el inicio de la acumulación de A β .

Conclusions

The main conclusion of this dissertation is that the MEG is a really useful tool to measure the changes in the neuronal activity due to the existence of an underlying neuropathological process. To reach the point of being able to study these changes numerous tools of analysis had to be developed, all of them tailored for the study of the basal activity with eyes closed, since the pipeline analysis of MEG signals is not yet standardized. In the last 20 years, Neuroscience has greatly evolved, absorbing and integrating knowledge from many disciplines. Among them, Physics has occupied an important place because the brain, after all, is a complex electromagnetic biological system. The implementation of the methodologies used for the preprocessing, the solving of the inverse problem and the analysis of the brain activity in the sources' space, has constituted the basis of the present thesis and the most time-consuming part. This process has required a detailed study of the characteristics of the neuromagnetic signals: their magnitude, their spectral distribution and their temporal and spatial dynamics. In particular, the keystone on which the theoretical edifice was built is the specific profile of the spectral distribution, which is likely the most robust and replicable result of electrophysiology. Furthermore, the solution of the inverse problem has been an essential step in order to standardize the results. By solving this issue, working in the standard space has been made possible, allowing the combination of different neuroimaging modalities. However, the inverse problem is highly undetermined, and its solution has required a strong multidisciplinary effort in order to achieve the necessary robustness and replicability. Finally, several tools of analysis have been developed. The first target has been the reduction of the problem's dimensions, and the second has focused on the static and dynamic characterization of the brain activity. Specifically, the dynamic characterization has consisted in the assessing of the functional connectivity in the sources' space. In short, this thesis presents a multidisciplinary work, with a methodological basis built from biophysics and engineering, and tuning to investigate one of the major challenges of modern neuroscience.

This Thesis has been focused on the study of the main genetic risk factor of developing AD, and in the amyloid accumulation. In both cases, this work has added new information in order to facilitate the future development of new synaptic failure related biomarkers.

Both types of analysis; the spectral distribution, and the functional organization of electromagnetic activity in the eyes closed basal state, have proved their ability to perceive changes in populations without cognitive impairment, showing in most cases an accentuation of these changes in pathological populations, formed by patients with MCI. In a more specific way, the main findings of this thesis are:

The occurrence of the two main effects of the development of AD shown in the literature of electrophysiology has been found. The first is the "slowness" of the brain activity in MCI subjects, consisting of an increase in slow wave power and a decrease of power in the high frequency. The second is the FC disruption that the patients with MCI showed within the DMN.

The APOE- ϵ 4 allele seems to accentuate, likely by facilitating amyloidosis, the role of the frontal regions in the initial development of AD. In particular: 1) the superior frontal gyrus shows an increase in theta power in subjects carrying the APOE- ϵ 4 allele; and 2) the right frontal-orbital-temporal region shows a pattern of FC in the alpha and theta bands consistent with a compensatory mechanism. This pattern consists of a hypersynchronization in the CN34 and hiposincronización in MCI34, both in comparison to the APOE genotype 33 population.

The study of the effect of the A β accumulation in the spectral distribution of the cerebral basal activity has produced three main results: 1) the A β accumulation has proved to be a crucial factor in analyzing groups with MCI subjects, because the diminished alpha power seemed to be due to the amyloid negative MCI patients; 2) The delta and theta enhanced power seemed to be related with the cognitive decline, and it emerged as significant in all pairwise comparisons which involved MCIs vs HCs; 3) The A β accumulation seemed to cause an increase in the alpha power within the frontal region (FMC and Acc). This effect occurs regardless of cognitive status since it is visible both in HC+ and MCI+

Finally, we have described in detail the effect of the amyloid accumulation onto the integrity of the precuneus' functionality. It seems that there is a hyposynchronization within the precuneus in the delta frequency band. At the same time, but in the inter-ROI level, there is a hypersynchronization between the precuneus and both inferior parietal lobes. This effect appears in the HC+, which didn't show any sign of hypometabolism nor hippocampal atrophy. Thus, the conclusions obtained point out that the synaptic failure at least coexists with the beginning of the amyloid deposition, or even precedes it.

Limitaciones

Las limitaciones más importantes con las que se ha tenido que lidiar en la realización de esta tesis son fundamentalmente de 3 tipos: el tamaño de las poblaciones, la no disponibilidad de todos los biomarcadores y la escasa literatura existente en la electrofisiología relacionada con la interpretación de la conectividad funcional en el estado basal del cerebro.

El tamaño de las poblaciones suele constituir un factor fundamental a la hora de otorgar solidez a los resultados de un estudio. En el caso de esta tesis se ha dispuesto en general de unos tamaños de población que se estimaron suficientes para poder llevar a cabo los estudios, en especial porque las características necesarias para que los sujetos pudieran entrar a formar parte de un determinado grupo fueron muy exigentes. Quizás el mayor hándicap fue el análisis de la influencia del alelo APOE- ϵ 4 donde el número de controles con genotipo 34 no era muy elevado. Esta limitación reflejaba la enorme dificultad para reclutar sujetos control que muestren una cierta características neuropatológica, ya sea la tenencia del alelo APOE- ϵ 4 o un marcador de A β positivo, debido a la baja prevalencia en la población sana de dichas características por un lado y al hecho de que precisamente por no tener ningún síntoma cognitivo los sujetos no eran conscientes de hallarse en un grupo de riesgo. No obstante en los estudios donde el grupo CN34 fue incluido se realizaron pruebas estadísticas extras con el fin de minimizar el posible error tipo I que conllevaba el pequeño tamaño de esa población. Desafortunadamente controlar la incidencia de errores tipo II fue mucho más difícil pero se pensó que en todo caso era mejor perder posibles resultados que reportar resultados erróneos. Además de la dificultad para conseguir sujetos control con genotipo de APOE 34, fue imposible conseguir un grupo con genotipo 44. Sin duda esto hubiera significado una mejora importante al poder analizar el grado de influencia entre ser portador de un alelo APOE- ϵ 4 o de dos (Figura 1.13).

En cuanto a la disponibilidad de biomarcadores hay dos limitaciones claras. La primera es la ausencia de un marcador de acumulación de A β en los estudios sobre la influencia del alelo APOE- ϵ 4. La muestra de Madrid no lo tenía debido a la no disponibilidad de un sistema PiB adecuado en el momento en que se ejecutó el proyecto y a las dificultades, tanto en el ámbito ético como en el médico, que conllevaría la realización de punciones lumbares para un estudio de investigación con el elevado tamaño poblacional que tenía el realizado en el grupo de esta tesis. Pero precisamente por ello se decidió colaborar con el grupo de Japón. La segunda es la disponibilidad de un marcador de la proteína tau. Hoy día la relación entre la acumulación de A β y la agregación de tau sigue siendo bastante desconocida²¹⁶, pero en los últimos estudios sobre el progreso de la neuropatología asociada a la EA³, se ha establecido que la aparición de tau en las regiones subcorticales,

fundamentalmente la región hipocampal, ocurre antes de que la haga la acumulación de A β , aunque por sí misma no desencadena la enfermedad. El detonante parece estar relacionado con el momento en que la acumulación de placas de A β se torna significativa, lo que genera un cambio en la patología subyacente de tau favoreciendo la aparición de los ovillos neurofibrilares en el interior de las neuronas³⁸². Por tanto, es factible pensar que tau es un factor relevante en las alteraciones en la actividad electromagnética descritas en esta tesis. Más aún si se tiene en cuenta que el patrón estereotípico del avance de la patología tau es fundamentalmente el opuesto al de la acumulación de A β ²³¹, de forma que el papel de tau ha de ser crucial en como mínimo las alteraciones encontradas en las regiones mediales temporales.

Respecto a la escasa literatura en electrofisiología, es un hecho que la MRI es la técnica de neuroimagen más extendida en la investigación relacionada con la EA, especialmente en los estudios más vanguardistas en los que se analizan los nuevos criterios diagnósticos mediante la inclusión de biomarcadores^{276,383}. Esta circunstancia es especialmente notoria en el caso de los análisis de FC donde el uso de la fMRI es absolutamente mayoritario. Sin embargo, la fMRI no es una medida directa de la actividad neuronal y su resolución temporal es en el mejor de los casos de unos pocos segundos. Es innegable que la actividad cerebral ocurre en un rango temporal muchísimo menor y que las únicas técnicas que son capaces de registrar esa actividad a día de hoy son las electrofisiológicas. Por ello es necesario el desarrollo de nuevas metodologías de análisis de forma que el estudio con MEG y EEG sea accesible, y completamente replicable, de la forma en que lo es con fMRI. Quizás de esta forma sea más fácil justificar la compra de nuevos sistemas MEG en los hospitales y con ello la aceleración y consolidación de la investigación clínica con MEG.

Direcciones Futuras

En este apartado cabría decir numerosas proposiciones. Lo primero sería la realización de más estudios longitudinales para estudiar las diferentes trayectorias de la evolución neuropatológica de la EA en cada individuo de forma que en las medidas de neuroimagen estuvieran expresadas en ratios⁴, más sólidos en cuanto a su independencia de las condiciones iniciales de cada persona. Así mismo, es necesario trabajar en la integración de las diferentes modalidades de neuroimagen de forma que se clarifiquen las bondades y defectos de cada una, y en especial de la interpretación de los resultados obtenidos mediante su sinergia. Es decir, obtener el mayor número de medidas posibles en cada experimento de forma que se pueda tener información de al menos los factores principales intervinientes en los procesos estudiados. De esa manera se podría ser capaz de describir mejor la situación particular que caracteriza a cada sujeto. Por ejemplo, mediante la realización de más estudios multimodales, con el aumento de la investigación básica que estudiase qué miden exactamente las técnicas de neuroimagen y la inclusión de las neurobiológicas clave del problema como lo es tau en el caso de la investigación en las etapas preclínicas de la EA³⁸⁴. Además serán necesario nuevos enfoques metodológicos capaces de estudiar las redes cerebrales como un sistema integrado en el que la activación de unas y desactivación de otras son dos caras de la misma moneda^{276,327,349,385}. La segregación en bandas de frecuencia responde a una necesidad de simplificar los resultados pero en el fondo no hace sino expresar la visión segregacionista que ha dominado la neurociencia hasta la llegada de la FC.

Por último es crucial resaltar la necesidad de un cambio en la neurociencia actual hacia una situación en la que prime la estandarización de las metodologías y en consecuencia la replicabilidad de los resultados³⁸⁶. Este cometido requeriría de la generación de grandes bases de datos, comunes y accesibles, del establecimiento de unas metodologías de análisis estándar y de la publicación de resultados negativos, sin duda una de las mayores inconsistencias de la ciencia actual. Esto, además, sería un paso clave para disminuir la aparente mercantilización de la investigación mediante la reducción de la influencia de las revistas científicas, que de una forma progresiva parecen estar transformándose en empresas interesadas en la obtención de un rédito económico. Todo ello bajo la connivencia de los investigadores que al aceptar las reglas de juego estamos contribuyendo a un sistema que se aleja cada vez más de los ideales de la ciencia.

Referencias

1. Brookmeyer, R., Johnson, E., Ziegler-Graham, K. & Arrighi, H. M., Forecasting the global burden of Alzheimer's disease. *Alzheimers. Dement.* **3** (2007) 186–91
2. Hardy, J. & Selkoe, D. J., The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: progress and problems on the road to therapeutics. *Science* **297** (2002) 353–6
3. Jack, C. R. *et al.*, Tracking pathophysiological processes in Alzheimer's disease: an updated hypothetical model of dynamic biomarkers. *Lancet. Neurol.* **12** (2013) 207–16
4. Villemagne, V. L. *et al.*, Amyloid β deposition, neurodegeneration, and cognitive decline in sporadic Alzheimer's disease: a prospective cohort study. *Lancet Neurol.* **12** (2013) 357–67
5. Sperling, R. A. *et al.*, Toward defining the preclinical stages of Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimers. Dement.* **7** (2011) 280–92
6. Albert, M. S. *et al.*, The diagnosis of mild cognitive impairment due to Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimers. Dement.* **7** (2011) 270–9
7. Price, J. L. *et al.*, Neuropathology of nondemented aging: presumptive evidence for preclinical Alzheimer disease. *Neurobiol. Aging* **30** (2009) 1026–36
8. Aizenstein, H. J. *et al.*, Frequent amyloid deposition without significant cognitive impairment among the elderly. *Arch. Neurol.* **65** (2008) 1509–17
9. Jack, C. R. *et al.*, Age-specific population frequencies of cerebral β -amyloidosis and neurodegeneration among people with normal cognitive function aged 50–89 years: a cross-sectional study. *Lancet Neurol.* **13** (2014) 997–1005
10. Kim, J., Basak, J. M. & Holtzman, D. M., The role of apolipoprotein E in Alzheimer's disease. *Neuron* **63** (2009) 287–303
11. Strittmatter, W. J. *et al.*, Apolipoprotein E: high-avidity binding to beta-amyloid and increased frequency of type 4 allele in late-onset familial Alzheimer disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **90** (1993) 1977–81

12. Corder, E. H. *et al.*, Gene dose of apolipoprotein E type 4 allele and the risk of Alzheimer's disease in late onset families. *Science* **261** (1993) 921–3
13. Mahley, R. W. & Huang, Y., Apolipoprotein e sets the stage: response to injury triggers neuropathology. *Neuron* **76** (2012) 871–85
14. Farrer, L. A. *et al.*, Effects of age, sex, and ethnicity on the association between apolipoprotein E genotype and Alzheimer disease. A meta-analysis. APOE and Alzheimer Disease Meta Analysis Consortium. *JAMA* **278** (1997) 1349–56
15. Barabash, A. *et al.*, APOE, ACT and CHRNA7 genes in the conversion from amnesic mild cognitive impairment to Alzheimer's disease. *Neurobiol. Aging* **30** (2009) 1254–64
16. Buckner, R. L. *et al.*, Molecular, structural, and functional characterization of Alzheimer's disease: evidence for a relationship between default activity, amyloid, and memory. *J. Neurosci.* **25** (2005) 7709–17
17. Vlassenko, A. G. *et al.*, Spatial correlation between brain aerobic glycolysis and amyloid- β (A β) deposition. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **107** (2010) 17763–7
18. Mintun, M. A. *et al.*, [11C]PIB in a nondemented population: potential antecedent marker of Alzheimer disease. *Neurology* **67** (2006) 446–52
19. Buckner, R. L., Andrews-Hanna, J. R. & Schacter, D. L., The brain's default network: anatomy, function, and relevance to disease. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **1124** (2008) 1–38
20. Raichle, M. E. *et al.*, A default mode of brain function. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **98** (2001) 676–82
21. Bero, A. W. *et al.*, Neuronal activity regulates the regional vulnerability to amyloid- β deposition. *Nat. Neurosci.* **14** (2011) 750–6
22. Bero, A. W. *et al.*, Bidirectional relationship between functional connectivity and amyloid- β deposition in mouse brain. *J. Neurosci.* **32** (2012) 4334–40
23. Grandjean, J. *et al.*, Early alterations in functional connectivity and white matter structure in a transgenic mouse model of cerebral amyloidosis. *J. Neurosci.* **34** (2014) 13780–9
24. Sepulcre, J., Sabuncu, M. R., Becker, A., Sperling, R. & Johnson, K. A., In vivo characterization of the early states of the amyloid-beta network. *Brain* **136** (2013) 2239–52

25. Vellas, B. *et al.*, Prevention trials in Alzheimer's disease: an EU-US task force report. *Prog. Neurobiol.* **95** (2011) 594–600
26. Lizio, R. *et al.*, Electroencephalographic rhythms in Alzheimer's disease. *Int. J. Alzheimers. Dis.* **2011** (2011) 927573
27. Rossini, P. M., Rossi, S., Babiloni, C. & Polich, J., Clinical neurophysiology of aging brain: from normal aging to neurodegeneration. *Prog. Neurobiol.* **83** (2007) 375–400
28. Soininen, H. *et al.*, A severe loss of choline acetyltransferase in the frontal cortex of Alzheimer patients carrying apolipoprotein epsilon 4 allele. *Neurosci. Lett.* **187** (1995) 79–82
29. Poirier, J. *et al.*, Apolipoprotein E4 allele as a predictor of cholinergic deficits and treatment outcome in Alzheimer disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **92** (1995) 12260–4
30. Huang, C. *et al.*, Discrimination of Alzheimer's disease and mild cognitive impairment by equivalent EEG sources: a cross-sectional and longitudinal study. *Clin. Neurophysiol.* **111** (2000) 1961–7
31. Chiaramonti, R. *et al.*, Correlations of topographical EEG features with clinical severity in mild and moderate dementia of Alzheimer type. *Neuropsychobiology* **36** (1997) 153–8
32. Babiloni, C. *et al.*, Mapping distributed sources of cortical rhythms in mild Alzheimer's disease. A multicentric EEG study. *Neuroimage* **22** (2004) 57–67
33. Osipova, D. *et al.*, Source estimation of spontaneous MEG oscillations in mild cognitive impairment. *Neurosci. Lett.* **405** (2006) 57–61
34. Babiloni, C. *et al.*, Fronto-parietal coupling of brain rhythms in mild cognitive impairment: a multicentric EEG study. *Brain Res. Bull.* **69** (2006) 63–73
35. Gonzalez-Escamilla, G., Atienza, M. & Cantero, J. L., Impaired cortical oscillatory coupling in mild cognitive impairment: anatomical substrate and ApoE4 effects. *Brain Struct. Funct.* (2014) doi:10.1007/s00429-014-0757-1
36. Stam, C. J., Use of magnetoencephalography (MEG) to study functional brain networks in neurodegenerative disorders. *J. Neurol. Sci.* **289** (2010) 128–34

37. Babiloni, C. *et al.*, Stability of clinical condition in mild cognitive impairment is related to cortical sources of alpha rhythms: An electroencephalographic study. *Hum. Brain Mapp.* **32** (2011) 1916–1931
38. Trachtenberg, A. J. *et al.*, The effects of APOE on the functional architecture of the resting brain. *Neuroimage* **59** (2012) 565–72
39. Pike, K. E. *et al.*, Beta-amyloid imaging and memory in non-demented individuals: evidence for preclinical Alzheimer's disease. *Brain* **130** (2007) 2837–44
40. Fleisher, A. S. *et al.*, Apolipoprotein E ϵ 4 and age effects on florbetapir positron emission tomography in healthy aging and Alzheimer disease. *Neurobiol. Aging* **34** (2013) 1–12
41. Sperling, R. A. *et al.*, Amyloid deposition is associated with impaired default network function in older persons without dementia. *Neuron* **63** (2009) 178–88
42. Drzezga, A. *et al.*, Neuronal dysfunction and disconnection of cortical hubs in non-demented subjects with elevated amyloid burden. *Brain* **134** (2011) 1635–46
43. Hedden, T. *et al.*, Disruption of functional connectivity in clinically normal older adults harboring amyloid burden. *J. Neurosci.* **29** (2009) 12686–94
44. Sheline, Y. I. *et al.*, Amyloid plaques disrupt resting state default mode network connectivity in cognitively normal elderly. *Biol. Psychiatry* **67** (2010) 584–7
45. Mormino, E. C. *et al.*, Relationships between β -amyloid and functional connectivity in different components of the default mode network in aging. *Cereb. Cortex* **21** (2011) 2399–407
46. Palop, J. J. & Mucke, L., Amyloid-beta-induced neuronal dysfunction in Alzheimer's disease: from synapses toward neural networks. *Nat. Neurosci.* **13** (2010) 812–8
47. Busche, M. A. *et al.*, Clusters of hyperactive neurons near amyloid plaques in a mouse model of Alzheimer's disease. *Science* **321** (2008) 1686–9
48. Lopez, M. E. *et al.*, Alpha-Band Hypersynchronization in Progressive Mild Cognitive Impairment: A Magnetoencephalography Study. *J. Neurosci.* **34** (2014) 14551–14559
49. Lim, H. K. *et al.*, Regional amyloid burden and intrinsic connectivity networks in cognitively normal elderly subjects. *Brain* (2014) awu271–doi:10.1093/brain/awu271

50. Bero, A. W. *et al.*, Neuronal activity regulates the regional vulnerability to amyloid- β deposition. *Nat. Neurosci.* **14** (2011) 750–6
51. Varela, F., Lachaux, J. P., Rodriguez, E. & Martinerie, J., The brainweb: phase synchronization and large-scale integration. *Nat. Rev. Neurosci.* **2** (2001) 229–39
52. Pievani, M., de Haan, W., Wu, T., Seeley, W. W. & Frisoni, G. B., Functional network disruption in the degenerative dementias. *Lancet Neurol.* **10** (2011) 829–43
53. Van Veen, B. D., van Drongelen, W., Yuchtman, M. & Suzuki, A., Localization of brain electrical activity via linearly constrained minimum variance spatial filtering. *IEEE Trans. Biomed. Eng.* **44** (1997) 867–80
54. Desikan, R. S. *et al.*, An automated labeling system for subdividing the human cerebral cortex on MRI scans into gyral based regions of interest. *Neuroimage* **31** (2006) 968–980
55. Rossini, P. M., Rossi, S., Babiloni, C. & Polich, J., Clinical neurophysiology of aging brain: from normal aging to neurodegeneration. *Prog. Neurobiol.* **83** (2007) 375–400
56. Poirier, J. *et al.*, Apolipoprotein E4 allele as a predictor of cholinergic deficits and treatment outcome in Alzheimer disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **92** (1995) 12260–4
57. Huang, C. *et al.*, Discrimination of Alzheimer's disease and mild cognitive impairment by equivalent EEG sources: a cross-sectional and longitudinal study. *Clin. Neurophysiol.* **111** (2000) 1961–7
58. Chiaramonti, R. *et al.*, Correlations of topographical EEG features with clinical severity in mild and moderate dementia of Alzheimer type. *Neuropsychobiology* **36** (1997) 153–8
59. Babiloni, C. *et al.*, Mapping distributed sources of cortical rhythms in mild Alzheimer's disease. A multicentric EEG study. *Neuroimage* **22** (2004) 57–67
60. Jones, E. G., The Neuron Doctrine 1891. *J. Hist. Neurosci.* **3** (1994) 3–20
61. Cajal, S. R. y, *Estudios sobre la degeneración y regeneración del sistema nerviosa, Volumen 2.* (1914) at
http://books.google.es/books/about/Estudios_sobre_la_degeneración_y_regene.html?id=8FokAQAAIAAJ&pgis=1

62. Cajal, S. R. y, *Textura del sistema nervioso del hombre y de los vertebrados*. Imprenta y Librería de Nicolás Moya (1902) at <<http://books.google.com/books?id=kZTDngEACAAJ&pgis=1>>
63. Heppner, F. L., Ransohoff, R. M. & Becher, B., Immune attack: the role of inflammation in Alzheimer disease. *Nat. Rev. Neurosci.* **16** (2015) 358–372
64. Peters, A., Palay, S. & Webster, F., *The Fine Structure of the Nervous System: Neurons and Their Supporting Cells*. Oxford University Press (1991)
65. Hämäläinen, M., Hari, R., Ilmoniemi, R. J., Knuutila, J. & Lounasmaa, O. V., Magnetoencephalography—theory, instrumentation, and applications to noninvasive studies of the working human brain. *Rev. Mod. Phys.* **65** (1993) 413–497
66. Hämäläinen, M., Hari, R., Ilmoniemi, R. J., Knuutila, J. & Lounasmaa, O. V., Magnetoencephalography—theory, instrumentation, and applications to noninvasive studies of the working human brain. *Rev. Mod. Phys.* **65** (1993) 413–497
67. Lorente de No, R., Action potential of the motoneurons of the hypoglossus nucleus. *J. Cell. Physiol.* **29** (1947) 207–87
68. Gratta, C. Del, Pizzella, V., Tecchio, F. & Romani, G. L., Magnetoencephalography - a noninvasive brain imaging method with 1 ms time resolution. *Reports Prog. Phys.* **64** (2001) 1759–1814
69. Gratta, C. Del, Pizzella, V., Tecchio, F. & Romani, G. L., Magnetoencephalography - a noninvasive brain imaging method with 1 ms time resolution. *Reports Prog. Phys.* **64** (2001) 1759–1814
70. Lopes da Silva, F., EEG and MEG: relevance to neuroscience. *Neuron* **80** (2013) 1112–28
71. Fisch, B., *EEG Primer* | 978-0-444-82148-5 | Elsevier. Elsevier (1999) at <<http://www.elsevier.com/books/fisch-and-spehlmanns-eeg-primer/fisch/978-0-444-82148-5>>
72. Niedermeyer, E., *Electroencephalography: Basic principles, clinical applications, and related fields*. Williams & Wilkins (1993) at <<http://www.amazon.es/Niedermeyers-Electroencephalography-Principles-Clinical-Applications/dp/0781789427>>

73. Baars, B. & Gage, N., *Fundamentals of Cognitive Neuroscience* | 978-0-12-415805-4 / Elsevier. Elsevier (2013) at <<https://www.elsevier.com/books/fundamentals-of-cognitive-neuroscience/baars/978-0-12-415805-4>>
74. Cacioppo, J., Tassinari, L. & Berntson, G., *The Handbook of Psychophysiology*. Cambridge University Press (2007)
75. Carelli, P. & Pizzella, V., Biomagnetism: an application of superconductivity. *Supercond. Sci. Technol.* **5** (1992) 407–420
76. Taulu, S. & Kajola, M., Presentation of electromagnetic multichannel data: The signal space separation method. *J. Appl. Phys.* **97** (2005) 124905
77. Taulu, S. & Simola, J., Spatiotemporal signal space separation method for rejecting nearby interference in MEG measurements. *Phys. Med. Biol.* **51** (2006) 1759–68
78. Baars, B. & Gage, N., *Fundamentals of Cognitive Neuroscience* | 978-0-12-415805-4 / Elsevier. Elsevier (2013)
79. Klunk, W. E. *et al.*, Imaging brain amyloid in Alzheimer's disease with Pittsburgh Compound-B. *Ann. Neurol.* **55** (2004) 306–19
80. Okamura, N. *et al.*, Non-invasive assessment of Alzheimer's disease neurofibrillary pathology using 18F-THK5105 PET. *Brain* **137** (2014) 1762–71
81. Lobo, A., Ezquerra, J., Gómez Burgada, F., Sala, J. M. & Seva Díaz, A., [Cognocitive mini-test (a simple practical test to detect intellectual changes in medical patients)]. *Actas Luso. Esp. Neurol. Psiquiatr. Cienc. Afines* **7** (1979) 189–202
82. García, J., Sánchez, M. & Delviso, S., Traducción al español del Test de Boston para el diagnóstico de afasia. *Ed. Madrid Panam.* (1986) 7–190
83. Benton, A. & Hamsher, K., Multilingual aphasia examination, 2nd. *Dep. Neurol. Psychol. Univ. Iowa* (1989)
84. Warrington, E. & James, M., The visual object and space perception battery by St Edmunds. *Thames Val. Test Co.* (1991)
85. Wechsler, D., Wechsler Memory Scale-revised. *Psychol. Corp. San Antonio* (1987)
86. Reitan, R., Validity of the trail making test as an indication of organic brain damage. *Percept Mot Ski.* **8** (1958) 271–276

87. Reisberg, B., Ferris, S. H., de Leon, M. J. & Crook, T., The Global Deterioration Scale for assessment of primary degenerative dementia. *Am. J. Psychiatry* **139** (1982) 1136–9
88. Yesavage, J. A. *et al.*, Development and validation of a geriatric depression screening scale: a preliminary report. *J. Psychiatr. Res.* **17** (1982) 37–49
89. Mohs, R. C. *et al.*, Development of cognitive instruments for use in clinical trials of antidementia drugs: additions to the Alzheimer's Disease Assessment Scale that broaden its scope. The Alzheimer's Disease Cooperative Study. *Alzheimer Dis. Assoc. Disord.* **11 Suppl 2** (1997) S13–21
90. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders: DSM Library. at <<http://dsm.psychiatryonline.org/doi/book/10.1176/appi.books.9780890425596>>
91. Prevalence of dementia in Europe - Prevalence of dementia - European Collaboration on Dementia - Research - Alzheimer Europe. at <<http://www.alzheimer-europe.org/Research/European-Collaboration-on-Dementia/Prevalence-of-dementia/Prevalence-of-dementia-in-Europe>>
92. WHO | Dementia: a public health priority. at <http://www.who.int/mental_health/publications/dementia_report_2012/en/#.VT-q0WdMm0M.mendeley>
93. 2014 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimers. Dement.* **10** (2014) e47–92
94. Grady, C., The cognitive neuroscience of ageing. *Nat. Rev. Neurosci.* **13** (2012) 491–505
95. Grady, C., The cognitive neuroscience of ageing. *Nat. Rev. Neurosci.* **13** (2012) 491–505
96. Josefsson, M., de Luna, X., Pudas, S., Nilsson, L.-G. & Nyberg, L., Genetic and lifestyle predictors of 15-year longitudinal change in episodic memory. *J. Am. Geriatr. Soc.* **60** (2012) 2308–12
97. Fjell, A. M., McEvoy, L., Holland, D., Dale, A. M. & Walhovd, K. B., What is normal in normal aging? Effects of aging, amyloid and Alzheimer's disease on the cerebral cortex and the hippocampus. *Prog. Neurobiol.* **117** (2014) 20–40
98. Brickman, A. M. *et al.*, Regional white matter and neuropsychological functioning across the adult lifespan. *Biol. Psychiatry* **60** (2006) 444–53

99. Benavides-Piccione, R., Fernaud-Espinosa, I., Robles, V., Yuste, R. & DeFelipe, J., Age-based comparison of human dendritic spine structure using complete three-dimensional reconstructions. *Cereb. Cortex* **23** (2013) 1798–810
100. Fjell, A. M., McEvoy, L., Holland, D., Dale, A. M. & Walhovd, K. B., What is normal in normal aging? Effects of aging, amyloid and Alzheimer's disease on the cerebral cortex and the hippocampus. *Prog. Neurobiol.* **117** (2014) 20–40
101. Andrews-Hanna, J. R. *et al.*, Disruption of large-scale brain systems in advanced aging. *Neuron* **56** (2007) 924–35
102. Raz, N., Ghisletta, P., Rodrigue, K. M., Kennedy, K. M. & Lindenberger, U., Trajectories of brain aging in middle-aged and older adults: regional and individual differences. *Neuroimage* **51** (2010) 501–11
103. Fjell, A. M. *et al.*, One-year brain atrophy evident in healthy aging. *J. Neurosci.* **29** (2009) 15223–31
104. Fjell, A. M. *et al.*, Critical ages in the life course of the adult brain: nonlinear subcortical aging. *Neurobiol. Aging* **34** (2013) 2239–47
105. Nyberg, L., Lövdén, M., Riklund, K., Lindenberger, U. & Bäckman, L., Memory aging and brain maintenance. *Trends Cogn. Sci.* **16** (2012) 292–305
106. Ezekiel, F. *et al.*, Comparisons between global and focal brain atrophy rates in normal aging and Alzheimer disease: Boundary Shift Integral versus tracing of the entorhinal cortex and hippocampus. *Alzheimer Dis. Assoc. Disord.* **18** (2004) 196–201
107. Fjell, A. M. *et al.*, One-year brain atrophy evident in healthy aging. *J. Neurosci.* **29** (2009) 15223–31
108. Buckner, R. L., Memory and executive function in aging and AD: multiple factors that cause decline and reserve factors that compensate. *Neuron* **44** (2004) 195–208
109. Head, D., Snyder, A. Z., Girton, L. E., Morris, J. C. & Buckner, R. L., Frontal-hippocampal double dissociation between normal aging and Alzheimer's disease. *Cereb. Cortex* **15** (2005) 732–9
110. Fjell, A. M. *et al.*, Accelerating cortical thinning: unique to dementia or universal in aging? *Cereb. Cortex* **24** (2014) 919–34
111. Brickman, A. M. *et al.*, Regional white matter and neuropsychological functioning across the adult lifespan. *Biol. Psychiatry* **60** (2006) 444–53

112. Persson, J. *et al.*, Structure-function correlates of cognitive decline in aging. *Cereb. Cortex* **16** (2006) 907–15
113. Yoshizawa, H., Gazes, Y., Stern, Y., Miyata, Y. & Uchiyama, S., Characterizing the normative profile of 18F-FDG PET brain imaging: sex difference, aging effect, and cognitive reserve. *Psychiatry Res.* **221** (2014) 78–85
114. Arenaza-Urquijo, E. M. *et al.*, Relationships between years of education and gray matter volume, metabolism and functional connectivity in healthy elders. *Neuroimage* **83** (2013) 450–7
115. Cirrito, J. R. *et al.*, Synaptic activity regulates interstitial fluid amyloid-beta levels in vivo. *Neuron* **48** (2005) 913–22
116. Buckner, R. L., The serendipitous discovery of the brain's default network. *Neuroimage* **62** (2012) 1137–45
117. Savva, G. M. *et al.*, Age, neuropathology, and dementia. *N. Engl. J. Med.* **360** (2009) 2302–9
118. Mormino, E. C. *et al.*, Synergistic effect of β -amyloid and neurodegeneration on cognitive decline in clinically normal individuals. *JAMA Neurol.* **71** (2014) 1379–85
119. Fjell, A. M. *et al.*, Brain Atrophy in Healthy Aging Is Related to CSF Levels of A 1-42. *Cereb. Cortex* **20** (2010) 2069–2079
120. Schott, J. M., Bartlett, J. W., Fox, N. C. & Barnes, J., Increased brain atrophy rates in cognitively normal older adults with low cerebrospinal fluid A β 1-42. *Ann. Neurol.* **68** (2010) 825–834
121. Hedden, T., Oh, H., Younger, A. P. & Patel, T. A., Meta-analysis of amyloid-cognition relations in cognitively normal older adults. *Neurology* **80** (2013) 1341–8
122. Mungas, D., Tractenberg, R., Schneider, J. A., Crane, P. K. & Bennett, D. A., A 2-process model for neuropathology of Alzheimer's disease. *Neurobiol. Aging* **35** (2014) 301–8
123. Braak, H. & Braak, E., Frequency of stages of Alzheimer-related lesions in different age categories. *Neurobiol. Aging* **18** (1997) 351–7
124. Desikan, R. S. *et al.*, Amyloid- β -Associated Clinical Decline Occurs Only in the Presence of Elevated P-tau. *Arch. Neurol.* **69** (2012) 709–13

125. Okamura, N. *et al.*, Non-invasive assessment of Alzheimer's disease neurofibrillary pathology using 18F-THK5105 PET. *Brain* **137** (2014) 1762–71
126. Di Chiara, G., Role of dopamine in the behavioural actions of nicotine related to addiction. *Eur. J. Pharmacol.* **393** (2000) 295–314
127. Meltzer, C. C. *et al.*, Reduced binding of [18F]altanserin to serotonin type 2A receptors in aging: persistence of effect after partial volume correction. *Brain Res.* **813** (1998) 167–71
128. Stern, Y., Cognitive reserve in ageing and Alzheimer's disease. *Lancet. Neurol.* **11** (2012) 1006–12
129. Brayne, C. *et al.*, Education, the brain and dementia: neuroprotection or compensation? *Brain* **133** (2010) 2210–6
130. Iadecola, C., Neurovascular regulation in the normal brain and in Alzheimer's disease. *Nat. Rev. Neurosci.* **5** (2004) 347–60
131. Damoiseaux, J. S. *et al.*, Reduced resting-state brain activity in the 'default network' in normal aging. *Cereb. Cortex* **18** (2008) 1856–64
132. Andrews-Hanna, J. R. *et al.*, Disruption of large-scale brain systems in advanced aging. *Neuron* **56** (2007) 924–35
133. Grady, C. L. *et al.*, Age-related reductions in human recognition memory due to impaired encoding. *Science* **269** (1995) 218–21
134. Babiloni, C. *et al.*, White-matter lesions along the cholinergic tracts are related to cortical sources of EEG rhythms in amnesic mild cognitive impairment. *Hum. Brain Mapp.* **30** (2009) 1431–43
135. Kikuchi, M., Wada, Y., Koshino, Y., Nanbu, Y. & Hashimoto, T., Effects of scopolamine on interhemispheric EEG coherence in healthy subjects: analysis during rest and photic stimulation. *Clin. Electroencephalogr.* **31** (2000) 109–15
136. Grady, C. L. *et al.*, Age-related changes in cortical blood flow activation during visual processing of faces and location. *J. Neurosci.* **14** (1994) 1450–62
137. Zarahn, E., Rakitin, B., Abela, D., Flynn, J. & Stern, Y., Age-related changes in brain activation during a delayed item recognition task. *Neurobiol. Aging* **28** (2007) 784–98

138. Logan, J. M., Sanders, A. L., Snyder, A. Z., Morris, J. C. & Buckner, R. L., Under-Recruitment and Nonselective Recruitment. *Neuron* **33** (2002) 827–840
139. Lindenberger, U. & Baltes, P. B., Sensory functioning and intelligence in old age: a strong connection. *Psychol. Aging* **9** (1994) 339–55
140. Dennis, N. A. & Cabeza, R., Age-related dedifferentiation of learning systems: an fMRI study of implicit and explicit learning. *Neurobiol. Aging* **32** (2011) 2318.e17–30
141. Garrett, D. D., Kovacevic, N., McIntosh, A. R. & Grady, C. L., Blood oxygen level-dependent signal variability is more than just noise. *J. Neurosci.* **30** (2010) 4914–21
142. Fernández, A. *et al.*, Brain oscillatory complexity across the life span. *Clin. Neurophysiol.* **123** (2012) 2154–62
143. Pascual-Leone, A. *et al.*, Characterizing brain cortical plasticity and network dynamics across the age-span in health and disease with TMS-EEG and TMS-fMRI. *Brain Topogr.* **24** (2011) 302–15
144. Yuste, R. & Denk, W., Dendritic spines as basic functional units of neuronal integration. *Nature* **375** (1995) 682–4
145. Benavides-Piccione, R., Fernaud-Espinosa, I., Robles, V., Yuste, R. & DeFelipe, J., Age-based comparison of human dendritic spine structure using complete three-dimensional reconstructions. *Cereb. Cortex* **23** (2013) 1798–810
146. Green, R. C., Risk of Dementia Among White and African American Relatives of Patients With Alzheimer Disease. *JAMA* **287** (2002) 329
147. Schmechel, D. E. *et al.*, Increased amyloid beta-peptide deposition in cerebral cortex as a consequence of apolipoprotein E genotype in late-onset Alzheimer disease. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **90** (1993) 9649–9653
148. Hansen, L. A. *et al.*, Apolipoprotein-E ϵ -4 is associated with increased neurofibrillary pathology in the Lewy body variant of Alzheimer's disease. *Neurosci. Lett.* **182** (1994) 63–65
149. Barthel, H. *et al.*, Cerebral amyloid- β PET with florbetaben (18F) in patients with Alzheimer's disease and healthy controls: a multicentre phase 2 diagnostic study. *Lancet Neurol.* **10** (2011) 424–435
150. Berlau, D. J. *et al.*, Neocortical β -amyloid area is associated with dementia and APOE in the oldest-old. *Alzheimers. Dement.* **9** (2013) 699–705

151. Jansen, W. J. *et al.*, Prevalence of Cerebral Amyloid Pathology in Persons Without Dementia: A Meta-analysis. *JAMA* **313** (2015) 1924–1938
152. Liu, C.-C., Liu, C.-C., Kanekiyo, T., Xu, H. & Bu, G., Apolipoprotein E and Alzheimer disease: risk, mechanisms and therapy. *Nat. Rev. Neurol.* **9** (2013) 106–18
153. Castellano, J. M. *et al.*, Human apoE isoforms differentially regulate brain amyloid- β peptide clearance. *Sci. Transl. Med.* **3** (2011) 89ra57
154. Morris, J. C. *et al.*, APOE predicts amyloid-beta but not tau Alzheimer pathology in cognitively normal aging. *Ann. Neurol.* **67** (2010) 122–31
155. Kok, E. *et al.*, Apolipoprotein E-dependent accumulation of Alzheimer disease-related lesions begins in middle age. *Ann. Neurol.* **65** (2009) 650–7
156. Jansen, W. J. *et al.*, Prevalence of Cerebral Amyloid Pathology in Persons Without Dementia: A Meta-analysis. *JAMA* **313** (2015) 1924–1938
157. Caselli, R. J. *et al.*, Longitudinal modeling of age-related memory decline and the APOE epsilon4 effect. *N. Engl. J. Med.* **361** (2009) 255–63
158. Izaks, G. J. *et al.*, The association of APOE genotype with cognitive function in persons aged 35 years or older. *PLoS One* **6** (2011) e27415
159. Hashimoto, M. *et al.*, Apolipoprotein E epsilon 4 and the pattern of regional brain atrophy in Alzheimer's disease. *Neurology* **57** (2001) 1461–6
160. Honea, R. A., Vidoni, E., Harsha, A. & Burns, J. M., Impact of APOE on the healthy aging brain: a voxel-based MRI and DTI study. *J. Alzheimers. Dis.* **18** (2009) 553–64
161. Seo, E. H. *et al.*, Influence of APOE Genotype on Whole-Brain Functional Networks in Cognitively Normal Elderly. *PLoS One* **8** (2013) e83205
162. Reiman, E. M. *et al.*, Preclinical evidence of Alzheimer's disease in persons homozygous for the epsilon 4 allele for apolipoprotein E. *N. Engl. J. Med.* **334** (1996) 752–8
163. Machulda, M. M. *et al.*, Effect of APOE ϵ 4 status on intrinsic network connectivity in cognitively normal elderly subjects. *Arch. Neurol.* **68** (2011) 1131–6
164. Sheline, Y. I. *et al.*, APOE4 allele disrupts resting state fMRI connectivity in the absence of amyloid plaques or decreased CSF A β 42. *J. Neurosci.* **30** (2010) 17035–40

165. Brown, J. A. *et al.*, Brain network local interconnectivity loss in aging APOE-4 allele carriers. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **108** (2011) 20760–5
166. Filippini, N. *et al.*, Distinct patterns of brain activity in young carriers of the APOE-epsilon4 allele. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **106** (2009) 7209–14
167. Bookheimer, S. Y. *et al.*, Patterns of brain activation in people at risk for Alzheimer's disease. *N. Engl. J. Med.* **343** (2000) 450–6
168. Elman, J. A. *et al.*, Neural compensation in older people with brain amyloid- β deposition. *Nat. Neurosci.* **17** (2014) 1316–8
169. Hillary, F. G. *et al.*, Hyperconnectivity is a fundamental response to neurological disruption. *Neuropsychology* **29** (2015) 59–75
170. De Waal, H. *et al.*, Alzheimer's disease patients not carrying the apolipoprotein E ϵ 4 allele show more severe slowing of oscillatory brain activity. *Neurobiol. Aging* **34** (2013) 2158–63
171. Jelic, V. *et al.*, Apolipoprotein E epsilon4 allele decreases functional connectivity in Alzheimer's disease as measured by EEG coherence. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* **63** (1997) 59–65
172. Canuet, L. *et al.*, Resting-state network disruption and APOE genotype in Alzheimer's disease: a lagged functional connectivity study. *PLoS One* **7** (2012) e46289
173. Pa, J. *et al.*, Clinical-neuroimaging characteristics of dysexecutive mild cognitive impairment. *Ann. Neurol.* **65** (2009) 414–23
174. Farlow, M. R. *et al.*, Impact of APOE in mild cognitive impairment. *Neurology* **63** (2004) 1898–901
175. Whitehair, D. C. *et al.*, Influence of apolipoprotein E varepsilon4 on rates of cognitive and functional decline in mild cognitive impairment. *Alzheimers. Dement.* **6** (2010) 412–9
176. Cosentino, S. *et al.*, APOE epsilon 4 allele predicts faster cognitive decline in mild Alzheimer disease. *Neurology* **70** (2008) 1842–9
177. Vemuri, P. *et al.*, Effect of apolipoprotein E on biomarkers of amyloid load and neuronal pathology in Alzheimer disease. *Ann. Neurol.* **67** (2010) 308–16

178. Fleisher, A. S. *et al.*, Clinical predictors of progression to Alzheimer disease in amnestic mild cognitive impairment. *Neurology* **68** (2007) 1588–95
179. Elias-Sonnenschein, L. S., Viechtbauer, W., Ramakers, I. H. G. B., Verhey, F. R. J. & Visser, P. J., Predictive value of APOE- ϵ 4 allele for progression from MCI to AD-type dementia: a meta-analysis. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* **82** (2011) 1149–56
180. Petersen, R. C. *et al.*, Apolipoprotein E status as a predictor of the development of Alzheimer's disease in memory-impaired individuals. *JAMA* **273** (1995) 1274–8
181. Lehtovirta, M. *et al.*, Spectral analysis of EEG in Alzheimer's disease: relation to apolipoprotein E polymorphism. *Neurobiol. Aging* **17** 523–6
182. Babiloni, C. *et al.*, Apolipoprotein E and alpha brain rhythms in mild cognitive impairment: a multicentric electroencephalogram study. *Ann. Neurol.* **59** (2006) 323–34
183. Raber, J., Huang, Y. & Ashford, J. W., ApoE genotype accounts for the vast majority of AD risk and AD pathology. *Neurobiol. Aging* **25** (2004) 641–50
184. Liu, C.-C., Liu, C.-C., Kanekiyo, T., Xu, H. & Bu, G., Apolipoprotein E and Alzheimer disease: risk, mechanisms and therapy. *Nat. Rev. Neurol.* **9** (2013) 106–18
185. Jessen, F. *et al.*, A conceptual framework for research on subjective cognitive decline in preclinical Alzheimer's disease. *Alzheimers. Dement.* **10** (2014) 844–52
186. Reisberg, B., Shulman, M. B., Torossian, C., Leng, L. & Zhu, W., Outcome over seven years of healthy adults with and without subjective cognitive impairment. *Alzheimers. Dement.* **6** (2010) 11–24
187. Jessen, F. *et al.*, AD dementia risk in late MCI, in early MCI, and in subjective memory impairment. *Alzheimers. Dement.* **10** (2014) 76–83
188. Gauthier, S. *et al.*, Mild cognitive impairment. *Lancet* **367** (2006) 1262–70
189. Petersen, R. C., Mild cognitive impairment as a diagnostic entity. *J. Intern. Med.* **256** (2004) 183–94
190. Petersen, R. C. & Morris, J. C., Mild cognitive impairment as a clinical entity and treatment target. *Arch. Neurol.* **62** (2005) 1160–3; discussion 1167
191. Jicha, G. A. *et al.*, Neuropathologic outcome of mild cognitive impairment following progression to clinical dementia. *Arch. Neurol.* **63** (2006) 674–81

192. Lim, Y. Y. *et al.*, Effect of amyloid on memory and non-memory decline from preclinical to clinical Alzheimer's disease. *Brain* **137** (2014) 221–31
193. Whitmer, R. A. *et al.*, Central obesity and increased risk of dementia more than three decades later. *Neurology* **71** (2008) 1057–64
194. Ohara, T. *et al.*, Glucose tolerance status and risk of dementia in the community: the Hisayama study. *Neurology* **77** (2011) 1126–34
195. Kivipelto, M. *et al.*, Obesity and vascular risk factors at midlife and the risk of dementia and Alzheimer disease. *Arch. Neurol.* **62** (2005) 1556–60
196. Kivipelto, M. *et al.*, Obesity and vascular risk factors at midlife and the risk of dementia and Alzheimer disease. *Arch. Neurol.* **62** (2005) 1556–60
197. Josefsson, M., de Luna, X., Pudas, S., Nilsson, L.-G. & Nyberg, L., Genetic and lifestyle predictors of 15-year longitudinal change in episodic memory. *J. Am. Geriatr. Soc.* **60** (2012) 2308–12
198. Reitz, C., Brayne, C. & Mayeux, R., Epidemiology of Alzheimer disease. *Nat. Rev. Neurol.* **7** (2011) 137–52
199. Lye, T. C. & Shores, E. A., Traumatic Brain Injury as a Risk Factor for Alzheimer's Disease: A Review. *Neuropsychol. Rev.* **10** 115–129
200. Plassman, B. L. *et al.*, Documented head injury in early adulthood and risk of Alzheimer's disease and other dementias. *Neurology* **55** (2000) 1158–1166
201. McKee, A. C. *et al.*, The spectrum of disease in chronic traumatic encephalopathy. *Brain* **136** (2013) 43–64
202. Stern, Y., Cognitive reserve in ageing and Alzheimer's disease. *Lancet. Neurol.* **11** (2012) 1006–12
203. Fratiglioni, L., Paillard-Borg, S. & Winblad, B., An active and socially integrated lifestyle in late life might protect against dementia. *Lancet. Neurol.* **3** (2004) 343–53
204. Stern, Y., Influence of Education and Occupation on the Incidence of Alzheimer's Disease. *JAMA J. Am. Med. Assoc.* **271** (1994) 1004
205. Fratiglioni, L., Paillard-Borg, S. & Winblad, B., An active and socially integrated lifestyle in late life might protect against dementia. *Lancet. Neurol.* **3** (2004) 343–53

206. Norton, S., Matthews, F. E., Barnes, D. E., Yaffe, K. & Brayne, C., Potential for primary prevention of Alzheimer's disease: an analysis of population-based data. *Lancet Neurol.* **13** (2014) 788–794
207. Braak, H. & Braak, E., Neuropathological staging of Alzheimer-related changes. *Acta Neuropathol.* **82** (1991) 239–59
208. Lucin, K. M. & Wyss-Coray, T., Immune activation in brain aging and neurodegeneration: too much or too little? *Neuron* **64** (2009) 110–22
209. Kan, M. J. *et al.*, Arginine Deprivation and Immune Suppression in a Mouse Model of Alzheimer's Disease. *J. Neurosci.* **35** (2015) 5969–5982
210. Iadecola, C., Neurovascular regulation in the normal brain and in Alzheimer's disease. *Nat. Rev. Neurosci.* **5** (2004) 347–60
211. Swerdlow, R. H., Burns, J. M. & Khan, S. M., The Alzheimer's disease mitochondrial cascade hypothesis: progress and perspectives. *Biochim. Biophys. Acta* **1842** (2014) 1219–31
212. Bettens, K., Sleegers, K. & Van Broeckhoven, C., Genetic insights in Alzheimer's disease. *Lancet. Neurol.* **12** (2013) 92–104
213. Xie, L. *et al.*, Sleep drives metabolite clearance from the adult brain. *Science* **342** (2013) 373–7
214. Norton, S., Matthews, F. E., Barnes, D. E., Yaffe, K. & Brayne, C., Potential for primary prevention of Alzheimer's disease: an analysis of population-based data. *Lancet Neurol.* **13** (2014) 788–794
215. Bateman, R. J. *et al.*, Clinical and biomarker changes in dominantly inherited Alzheimer's disease. *N. Engl. J. Med.* **367** (2012) 795–804
216. Spires-Jones, T. L. & Hyman, B. T., The intersection of amyloid beta and tau at synapses in Alzheimer's disease. *Neuron* **82** (2014) 756–71
217. Cirrito, J. R. *et al.*, Synaptic activity regulates interstitial fluid amyloid-beta levels in vivo. *Neuron* **48** (2005) 913–22
218. Garcia-Marin, V. *et al.*, Diminished perisomatic GABAergic terminals on cortical neurons adjacent to amyloid plaques. *Front. Neuroanat.* **3** (2009) 28
219. Mawuenyega, K. G. *et al.*, Decreased clearance of CNS beta-amyloid in Alzheimer's disease. *Science* **330** (2010) 1774

220. Castellano, J. M. *et al.*, Human apoE isoforms differentially regulate brain amyloid- β peptide clearance. *Sci. Transl. Med.* **3** (2011) 89ra57
221. Scheuner, D. *et al.*, Secreted amyloid β -protein similar to that in the senile plaques of Alzheimer's disease is increased in vivo by the presenilin 1 and 2 and APP mutations linked to familial Alzheimer's disease. *Nat. Med.* **2** (1996) 864–870
222. Xie, L. *et al.*, Sleep drives metabolite clearance from the adult brain. *Science* **342** (2013) 373–7
223. Gerstner, J. R., Perron, I. J. & Pack, A. I., The nexus of A β , aging, and sleep. *Sci. Transl. Med.* **4** (2012) 150fs34
224. Lim, Y. Y. *et al.*, Effect of amyloid on memory and non-memory decline from preclinical to clinical Alzheimer's disease. *Brain* **137** (2014) 221–31
225. Mattsson, N. *et al.*, Independent information from cerebrospinal fluid amyloid- β and florbetapir imaging in Alzheimer's disease. *Brain* (2014) doi:10.1093/brain/awu367
226. Fritsch, S. K. *et al.*, Highly potent soluble amyloid- β seeds in human Alzheimer brain but not cerebrospinal fluid. *Brain* **137** (2014) 2909–15
227. Song, Y., Meta-Analysis: Apolipoprotein E Genotypes and Risk for Coronary Heart Disease. *Ann. Intern. Med.* **141** (2004) 137
228. Rodrigue, K. M. *et al.*, Risk factors for β -amyloid deposition in healthy aging: vascular and genetic effects. *JAMA Neurol.* **70** (2013) 600–6
229. Götz, J., Ittner, L. M. & Kins, S., Do axonal defects in tau and amyloid precursor protein transgenic animals model axonopathy in Alzheimer's disease? *J. Neurochem.* **98** (2006) 993–1006
230. Ittner, L. M. *et al.*, Dendritic function of tau mediates amyloid-beta toxicity in Alzheimer's disease mouse models. *Cell* **142** (2010) 387–97
231. Brettschneider, J., Tredici, K. Del, Lee, V. M.-Y. & Trojanowski, J. Q., Spreading of pathology in neurodegenerative diseases: a focus on human studies. *Nat. Rev. Neurosci.* **16** (2015) 109–120
232. McKee, A. C. *et al.*, The spectrum of disease in chronic traumatic encephalopathy. *Brain* **136** (2013) 43–64

233. Santacruz, K. *et al.*, Tau suppression in a neurodegenerative mouse model improves memory function. *Science* **309** (2005) 476–81
234. Götz, J., Ittner, L. M. & Kins, S., Do axonal defects in tau and amyloid precursor protein transgenic animals model axonopathy in Alzheimer's disease? *J. Neurochem.* **98** (2006) 993–1006
235. Ittner, L. M. *et al.*, Dendritic function of tau mediates amyloid-beta toxicity in Alzheimer's disease mouse models. *Cell* **142** (2010) 387–97
236. Pooler, A. M., Phillips, E. C., Lau, D. H. W., Noble, W. & Hanger, D. P., Physiological release of endogenous tau is stimulated by neuronal activity. *EMBO Rep.* **14** (2013) 389–394
237. Yamada, K. *et al.*, Neuronal activity regulates extracellular tau in vivo. *J. Exp. Med.* **211** (2014) 387–93
238. Nelson, P. T. *et al.*, Correlation of Alzheimer disease neuropathologic changes with cognitive status: a review of the literature. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* **71** (2012) 362–81
239. Gómez-Isla, T. *et al.*, Neuronal loss correlates with but exceeds neurofibrillary tangles in Alzheimer's disease. *Ann. Neurol.* **41** (1997) 17–24
240. Buchhave, P. *et al.*, Cerebrospinal fluid levels of β -amyloid 1-42, but not of tau, are fully changed already 5 to 10 years before the onset of Alzheimer dementia. *Arch. Gen. Psychiatry* **69** (2012) 98–106
241. Buerger, K. *et al.*, CSF phosphorylated tau protein correlates with neocortical neurofibrillary pathology in Alzheimer's disease. *Brain* **129** (2006) 3035–41
242. Desikan, R. S. *et al.*, Amyloid- β -Associated Clinical Decline Occurs Only in the Presence of Elevated P-tau. *Arch. Neurol.* **69** (2012) 709–13
243. Duits, F. H. *et al.*, The cerebrospinal fluid 'Alzheimer profile': easily said, but what does it mean? *Alzheimers. Dement.* **10** (2014) 713–723.e2
244. Savva, G. M. *et al.*, Age, neuropathology, and dementia. *N. Engl. J. Med.* **360** (2009) 2302–9
245. Braak, H. & Braak, E., Frequency of stages of Alzheimer-related lesions in different age categories. *Neurobiol. Aging* **18** (1997) 351–7

246. Buckner, R. L., Memory and executive function in aging and AD: multiple factors that cause decline and reserve factors that compensate. *Neuron* **44** (2004) 195–208
247. Head, D., Snyder, A. Z., Girton, L. E., Morris, J. C. & Buckner, R. L., Frontal-hippocampal double dissociation between normal aging and Alzheimer's disease. *Cereb. Cortex* **15** (2005) 732–9
248. Driscoll, I. *et al.*, Longitudinal pattern of regional brain volume change differentiates normal aging from MCI. *Neurology* **72** (2009) 1906–13
249. De Leon, M. J. *et al.*, Longitudinal CSF and MRI biomarkers improve the diagnosis of mild cognitive impairment. *Neurobiol. Aging* **27** (2006) 394–401
250. Fjell, A. M. *et al.*, CSF biomarkers in prediction of cerebral and clinical change in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *J. Neurosci.* **30** (2010) 2088–101
251. Fjell, A. M. *et al.*, Brain Atrophy in Healthy Aging Is Related to CSF Levels of A 1-42. *Cereb. Cortex* **20** (2010) 2069–2079
252. Schott, J. M., Bartlett, J. W., Fox, N. C. & Barnes, J., Increased brain atrophy rates in cognitively normal older adults with low cerebrospinal fluid A β 1-42. *Ann. Neurol.* **68** (2010) 825–834
253. Biscaro, B., Lindvall, O., Hock, C., Ekdahl, C. T. & Nitsch, R. M., Abeta immunotherapy protects morphology and survival of adult-born neurons in doubly transgenic APP/PS1 mice. *J. Neurosci.* **29** (2009) 14108–19
254. Lilja, A. M. *et al.*, Age-dependent neuroplasticity mechanisms in Alzheimer Tg2576 mice following modulation of brain amyloid- β levels. *PLoS One* **8** (2013) e58752
255. Acosta-Cabronero, J., Williams, G. B., Pengas, G. & Nestor, P. J., Absolute diffusivities define the landscape of white matter degeneration in Alzheimer's disease. *Brain* **133** (2010) 529–39
256. Zhang, Y. *et al.*, White matter damage in frontotemporal dementia and Alzheimer's disease measured by diffusion MRI. *Brain* **132** (2009) 2579–92
257. Buckner, R. L., The serendipitous discovery of the brain's default network. *Neuroimage* **62** (2012) 1137–45
258. Carrera, E. & Tononi, G., Diaschisis: past, present, future. *Brain* **137** (2014) 2408–22

259. Klupp, E. *et al.*, In Alzheimer's disease, hypometabolism in low-amyloid brain regions may be a functional consequence of pathologies in connected brain regions. *Brain Connect.* **4** (2014) 371–83
260. Berger, H., Über das Elektrenkephalogramm des Menschen. *Arch. Psychiatr. Nervenkr.* **94** (1931) 16–60
261. Friston, K. J., Brain function, nonlinear coupling, and neuronal transients. *Neuroscientist* **7** (2001) 406–18
262. Varela, F., Lachaux, J., Rodriguez, E. & Martinerie, J., THE BRAINWEB : PHASE LARGE-SCALE INTEGRATION. **2** (2001)
263. Fernández, A., Gil Gregorio, P. & Maestú, F., Actividad espontánea electroencefalográfica y magnetoencefalográfica como marcador de la enfermedad de Alzheimer y el deterioro cognitivo leve. *Rev. Esp. Geriatr. Gerontol.* **47** (2012) 27–32
264. Jeong, J., EEG dynamics in patients with Alzheimer's disease. *Clin. Neurophysiol.* **115** (2004) 1490–505
265. Berendse, H. W., Verbunt, J. P., Scheltens, P., van Dijk, B. W. & Jonkman, E. J., Magnetoencephalographic analysis of cortical activity in Alzheimer's disease: a pilot study. *Clin. Neurophysiol.* **111** (2000) 604–12
266. Garcés, P. *et al.*, Brain-wide slowing of spontaneous alpha rhythms in mild cognitive impairment. *Front. Aging Neurosci.* **5** (2013) 100
267. Osipova, D. *et al.*, Effects of scopolamine on MEG spectral power and coherence in elderly subjects. *Clin. Neurophysiol.* **114** (2003) 1902–7
268. Gloor, P., Ball, G. & Schaul, N., Brain lesions that produce delta waves in the EEG. *Neurology* **27** (1977) 326–33
269. Hansen, L. A., DeTeresa, R., Davies, P. & Terry, R. D., Neocortical morphometry, lesion counts, and choline acetyltransferase levels in the age spectrum of Alzheimer's disease. *Neurology* **38** (1988) 48–54
270. Holschneider, D. P., Leuchter, A. F., Walton, N. Y., Scremin, O. U. & Treiman, D. M., Changes in cortical EEG and cholinergic function in response to NGF in rats with nucleus basalis lesions. *Brain Res.* **765** (1997) 228–37
271. Fernández, A. *et al.*, Focal temporoparietal slow activity in Alzheimer's disease revealed by magnetoencephalography. *Biol. Psychiatry* **52** (2002) 764–70

272. Fernández, A. *et al.*, Correlations of hippocampal atrophy and focal low-frequency magnetic activity in Alzheimer disease: volumetric MR imaging-magnetoencephalographic study. *AJNR. Am. J. Neuroradiol.* **24** (2003) 481–7
273. Dierks, T. *et al.*, Spatial pattern of cerebral glucose metabolism (PET) correlates with localization of intracerebral EEG-generators in Alzheimer's disease. *Clin. Neurophysiol.* **111** (2000) 1817–24
274. Brier, M. R. *et al.*, Loss of intranetwork and internetwork resting state functional connections with Alzheimer's disease progression. *J. Neurosci.* **32** (2012) 8890–9
275. Greicius, M. D., Srivastava, G., Reiss, A. L. & Menon, V., Default-mode network activity distinguishes Alzheimer's disease from healthy aging: evidence from functional MRI. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **101** (2004) 4637–42
276. Pievani, M., Filippini, N., van den Heuvel, M. P., Cappa, S. F. & Frisoni, G. B., Brain connectivity in neurodegenerative diseases-from phenotype to proteinopathy. *Nat. Rev. Neurol.* **10** (2014) 620–633
277. Bai, F. *et al.*, Topologically convergent and divergent structural connectivity patterns between patients with remitted geriatric depression and amnesic mild cognitive impairment. *J. Neurosci.* **32** (2012) 4307–18
278. Sorg, C. *et al.*, Selective changes of resting-state networks in individuals at risk for Alzheimer's disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **104** (2007) 18760–5
279. Agosta, F. *et al.*, Resting state fMRI in Alzheimer's disease: beyond the default mode network. *Neurobiol. Aging* **33** (2012) 1564–78
280. Zamboni, G. *et al.*, Resting functional connectivity reveals residual functional activity in Alzheimer's disease. *Biol. Psychiatry* **74** (2013) 375–83
281. Jucker, M. & Walker, L. C., Pathogenic protein seeding in Alzheimer disease and other neurodegenerative disorders. *Ann. Neurol.* **70** (2011) 532–40
282. Thompson, P. M. *et al.*, Dynamics of gray matter loss in Alzheimer's disease. *J. Neurosci.* **23** (2003) 994–1005
283. Daianu, M. *et al.*, Breakdown of brain connectivity between normal aging and Alzheimer's disease: a structural k-core network analysis. *Brain Connect.* **3** (2013) 407–22
284. Binnewijzend, M. A. A. *et al.*, Resting-state fMRI changes in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. *Neurobiol. Aging* **33** (2012) 2018–28

285. Toga, A. W. & Thompson, P. M., Connectomics sheds new light on Alzheimer's disease. *Biol. Psychiatry* **73** (2013) 390–2
286. Huijbers, W. *et al.*, Amyloid deposition is linked to aberrant entorhinal activity among cognitively normal older adults. *J. Neurosci.* **34** (2014) 5200–10
287. Elman, J. A. *et al.*, Effects of Beta-Amyloid on Resting State Functional Connectivity Within and Between Networks Reflect Known Patterns of Regional Vulnerability. *Cereb. Cortex* (2014) bhu259– doi:10.1093/cercor/bhu259
288. Lehmann, M. *et al.*, Intrinsic connectivity networks in healthy subjects explain clinical variability in Alzheimer's disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **110** (2013) 11606–11
289. Stam, C. J. *et al.*, Magnetoencephalographic evaluation of resting-state functional connectivity in Alzheimer's disease. *Neuroimage* **32** (2006) 1335–44
290. Koenig, T. *et al.*, Decreased EEG synchronization in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. *Neurobiol. Aging* **26** (2005) 165–71
291. Bajo, R. *et al.*, Functional connectivity in mild cognitive impairment during a memory task: implications for the disconnection hypothesis. *J. Alzheimers. Dis.* **22** (2010) 183–93
292. Delbeuck, X., Van der Linden, M. & Collette, F., Alzheimer's disease as a disconnection syndrome? *Neuropsychol. Rev.* **13** (2003) 79–92
293. Huang, H. *et al.*, Distinctive disruption patterns of white matter tracts in Alzheimer's disease with full diffusion tensor characterization. *Neurobiol. Aging* **33** (2012) 2029–45
294. Pievani, M. *et al.*, Assessment of white matter tract damage in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Hum. Brain Mapp.* **31** (2010) 1862–75
295. Becker, J. T. *et al.*, Brain structural and functional recovery following initiation of combination antiretroviral therapy. *J. Neurovirol.* **18** (2012) 423–7
296. Bajo, R. *et al.*, Early dysfunction of functional connectivity in healthy elderly with subjective memory complaints. *Age (Dordr).* **34** (2012) 497–506
297. Bajo, R. *et al.*, Differential patterns of connectivity in progressive mild cognitive impairment. *Brain Connect.* **2** (2012) 21–4

298. Corey-Bloom, J., The ABC of Alzheimer's disease: cognitive changes and their management in Alzheimer's disease and related dementias. *Int. Psychogeriatr.* **14 Suppl 1** (2002) 51–75
299. Hodges, J. R., Alzheimer's centennial legacy: origins, landmarks and the current status of knowledge concerning cognitive aspects. *Brain* **129** (2006) 2811–22
300. Bilgel, M. *et al.*, Trajectories of Alzheimer disease-related cognitive measures in a longitudinal sample. *Alzheimers. Dement.* **10** (2014) 735–742.e4
301. Amieva, H. *et al.*, Compensatory mechanisms in higher-educated subjects with Alzheimer's disease: a study of 20 years of cognitive decline. *Brain* **137** (2014) 1167–75
302. Sturm, V. E. *et al.*, Heightened emotional contagion in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease is associated with temporal lobe degeneration. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **110** (2013) 9944–9949
303. Lobo, A., Ezquerro, J., Gómez Burgada, F., Sala, J. M. & Seva Díaz, A., [Cognocitive mini-test (a simple practical test to detect intellectual changes in medical patients)]. *Actas Luso. Esp. Neurol. Psiquiatr. Cienc. Afines* **7** (1979) 189–202
304. Folstein, M. F., Folstein, S. E. & McHugh, P. R., 'Mini-mental state'. A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *J. Psychiatr. Res.* **12** (1975) 189–98
305. McKhann, G. M. *et al.*, The diagnosis of dementia due to Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimers. Dement.* **7** (2011) 263–9
306. Dubois, B. *et al.*, Advancing research diagnostic criteria for Alzheimer's disease: the IWG-2 criteria. *Lancet Neurol.* **13** (2014) 614–29
307. Vos, S. J. *et al.*, Preclinical Alzheimer's disease and its outcome: a longitudinal cohort study. *Lancet. Neurol.* **12** (2013) 957–65
308. McKhann, G. M. *et al.*, The diagnosis of dementia due to Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimers. Dement.* **7** (2011) 263–9
309. Jessen, F. *et al.*, A conceptual framework for research on subjective cognitive decline in preclinical Alzheimer's disease. *Alzheimers. Dement.* **10** (2014) 844–52

310. Seeley, W. W., Crawford, R. K., Zhou, J., Miller, B. L. & Greicius, M. D., Neurodegenerative diseases target large-scale human brain networks. *Neuron* **62** (2009) 42–52
311. Gasser, T. & Molinari, L., The analysis of the EEG. *Stat. Methods Med. Res.* **5** (1996) 67–99
312. Oostenveld, R., Fries, P., Maris, E. & Schoffelen, J.-M., FieldTrip: Open source software for advanced analysis of MEG, EEG, and invasive electrophysiological data. *Comput. Intell. Neurosci.* **2011** (2011) 156869
313. Nuwer, M. R. *et al.*, IFCN guidelines for topographic and frequency analysis of EEGs and EPs. The International Federation of Clinical Neurophysiology. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol. Suppl.* **52** (1999) 15–20
314. Gross, J. *et al.*, Good practice for conducting and reporting MEG research. *Neuroimage* **65** (2013) 349–63
315. Sancho, M., Quesada, F. S. & Bajo, R., Magnetoencefalografía y exploración de la dinámica cerebral. *Revista Española de Física* **21** (2011)
316. Maestú, F., Pereda, E. & Del-Pozo, F., *Conectividad Funcional y Anatómica en el Cerebro Humano*. Elsevier (2015)
317. Nolte, G., The magnetic lead field theorem in the quasi-static approximation and its use for magnetoencephalography forward calculation in realistic volume conductors. *Phys. Med. Biol.* **48** (2003) 3637–3652
318. Stenroos, M., Hunold, A. & Haueisen, J., Comparison of three-shell and simplified volume conductor models in magnetoencephalography. *Neuroimage* **94** (2014) 337–48
319. Sarvas, J., Basic mathematical and electromagnetic concepts of the biomagnetic inverse problem. *Phys. Med. Biol.* **32** (1987) 11–22
320. Sekihara, K. & Nagarajan, S. S., *Adaptive Spatial Filters for Electromagnetic Brain Imaging*. Springer Science & Business Media (2008) at <https://books.google.com/books?id=-lyn-1Jg3s4C&pgis=1>
321. Baillet, S., Mosher, J. C. & Leahy, R. M., Electromagnetic brain mapping. *IEEE Signal Process. Mag.* **18** (2001) 14–30
322. Penny, W., Friston, K., Ashburner, J., Kiebel, S. & Nichols, T., *Statistical Parametric Mapping: The Analysis of Functional Brain Images*. Academic Press (2006)

323. Percival, D. & AT, W., *Spectral Analysis for Physical Applications: Multitaper and Conventional Univariate Techniques*. Cambridge University Press (1993)
324. Oppenheim, A., Schafer, R. & Buck, J., *Discrete-Time Signal Processing*. Prentice Hall (1999)
325. Huygens, C., *Horoloquium Oscilatorium*. Paris. (1673)
326. Nunez, P., *Brain, mind, and the structure of reality*. Oxford University Press (2010)
327. Seeley, W. W., Crawford, R. K., Zhou, J., Miller, B. L. & Greicius, M. D., Neurodegenerative diseases target large-scale human brain networks. *Neuron* **62** (2009) 42–52
328. Pereda, E., Quiroga, R. Q. & Bhattacharya, J., Nonlinear multivariate analysis of neurophysiological signals. *Prog. Neurobiol.* **77** (2005) 1–37
329. Friston, K. J., Functional and effective connectivity in neuroimaging: A synthesis. *Hum. Brain Mapp.* **2** (1994) 56–78
330. Pikovsky, A., Rosenblum, M. & Kurths, J., *Synchronization: a universal concept in nonlinear sciences*. Cambridge University Press (2003)
331. Lachaux, J. P., Rodriguez, E., Martinerie, J. & Varela, F. J., Measuring phase synchrony in brain signals. *Hum. Brain Mapp.* **8** (1999) 194–208
332. Gross, J., Schnitzler, A., Timmermann, L. & Ploner, M., Gamma oscillations in human primary somatosensory cortex reflect pain perception. *PLoS Biol.* **5** (2007) e133
333. Mormann, F., Lehnertz, K., David, P. & Elger, C., Mean phase coherence as a measure for phase synchronization and its application to the EEG of epilepsy patients. *Phys. D Nonlinear Phenom.* **144** (2000) 358–369
334. Niso, G. *et al.*, HERMES: Towards an Integrated Toolbox to Characterize Functional and Effective Brain Connectivity. *Neuroinformatics* **11** (2013) 405–434
335. Fischl, B. *et al.*, Whole Brain Segmentation. *Neuron* **33** (2002) 341–355
336. Rabinovici, G. D. *et al.*, Amyloid vs FDG-PET in the differential diagnosis of AD and FTLD. *Neurology* **77** (2011) 2034–42
337. Delorme, A., in *Encyclopedia of Medical Devices and Instrumentation* John Wiley & Sons, Inc. (2006) doi:10.1002/0471732877.emd318

338. Delorme, A., in *Encyclopedia of Medical Devices and Instrumentation* John Wiley & Sons, Inc. (2006) doi:10.1002/0471732877.emd318
339. Jelic, V. *et al.*, Quantitative electroencephalography in mild cognitive impairment: longitudinal changes and possible prediction of Alzheimer's disease. *Neurobiol. Aging* **21** (2000) 533–40
340. Trafimow, D. & Marks, M., Editorial. *Basic Appl. Soc. Psych.* **37** (2015) 1–2
341. Glass, G. V, McGaw, B. & Smith, M. L., *Meta-analysis in social research*. Sage (1998)
342. Ernst, M. D., Permutation Methods: A Basis for Exact Inference. *Stat. Sci.* **19** (2004) 676–685
343. Maris, E. & Oostenveld, R., Nonparametric statistical testing of EEG- and MEG-data. *J. Neurosci. Methods* **164** (2007) 177–190
344. Auer, S. & Reisberg, B., The GDS/FAST staging system. *Int. Psychogeriatr.* **9 Suppl 1** (1997) 167–71
345. Pfeffer, R. I., Kurosaki, T. T., Harrah, C. H., Chance, J. M. & Filos, S., Measurement of functional activities in older adults in the community. *J. Gerontol.* **37** (1982) 323–9
346. Rosen, W. G., Terry, R. D., Fuld, P. A., Katzman, R. & Peck, A., Pathological verification of ischemic score in differentiation of dementias. *Ann. Neurol.* **7** (1980) 486–8
347. Lawton, M. P. & Brody, E. M., Assessment of older people: self-maintaining and instrumental activities of daily living. *Gerontologist* **9** (1969) 179–86
348. Damoiseaux, J. S. *et al.*, Consistent resting-state networks across healthy subjects. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **103** (2006) 13848–53
349. Stam, C. J., Modern network science of neurological disorders. *Nat. Rev. Neurosci.* **15** (2014) 683–95
350. Fernández, A. *et al.*, MEG delta mapping along the healthy aging-Alzheimer's disease continuum: diagnostic implications. *J. Alzheimers. Dis.* **35** (2013) 495–507
351. Klunk, W. E. *et al.*, Imaging brain amyloid in Alzheimer's disease with Pittsburgh Compound-B. *Ann. Neurol.* **55** (2004) 306–19
352. Evans, A. C., Janke, A. L., Collins, D. L. & Baillet, S., Brain templates and atlases. *Neuroimage* **62** (2012) 911–22

353. Friston, K. J., Functional and effective connectivity in neuroimaging: A synthesis. *Hum. Brain Mapp.* **2** (1994) 56–78
354. Esposito, F. *et al.*, Does the default-mode functional connectivity of the brain correlate with working-memory performances? *Arch. Ital. Biol.* **147** (2009) 11–20
355. Sambataro, F. *et al.*, Age-related alterations in default mode network: impact on working memory performance. *Neurobiol. Aging* **31** (2010) 839–52
356. Klimesch, W., EEG alpha and theta oscillations reflect cognitive and memory performance: a review and analysis. *Brain Res. Brain Res. Rev.* **29** (1999) 169–95
357. Kennedy, D. P. & Courchesne, E., Functional abnormalities of the default network during self- and other-reflection in autism. *Soc. Cogn. Affect. Neurosci.* **3** (2008) 177–90
358. Zhou, Y. *et al.*, Functional disintegration in paranoid schizophrenia using resting-state fMRI. *Schizophr. Res.* **97** (2007) 194–205
359. Berger, H., Über das Elektrenkephalogramm des Menschen. *Arch. Psychiatr. Nervenkr.* **87** (1929) 527–570
360. Bardin, J., Making connections. *News Featur.* (2012) 8–10
361. Babiloni, C. *et al.*, Resting state cortical electroencephalographic rhythms are related to gray matter volume in subjects with mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Hum. Brain Mapp.* **34** (2013) 1427–46
362. Babiloni, C. *et al.*, Sources of cortical rhythms change as a function of cognitive impairment in pathological aging: a multicenter study. *Clin. Neurophysiol.* **117** (2006) 252–68
363. López, M. E. *et al.*, MEG spectral analysis in subtypes of mild cognitive impairment. *Age (Dordr).* (2014) doi:10.1007/s11357-014-9624-5
364. Lehtovirta, M. *et al.*, Spectral analysis of EEG in Alzheimer's disease: relation to apolipoprotein E polymorphism. *Neurobiol. Aging* **17** 523–6
365. Bagepally, B. S. *et al.*, Apolipoprotein E4 and brain white matter integrity in Alzheimer's disease: tract-based spatial statistics study under 3-Tesla MRI. *Neurodegener. Dis.* **10** (2012) 145–8
366. Honea, R. A., Vidoni, E., Harsha, A. & Burns, J. M., Impact of APOE on the healthy aging brain: a voxel-based MRI and DTI study. *J. Alzheimers. Dis.* **18** (2009) 553–64

367. Han, X., Potential mechanisms contributing to sulfatide depletion at the earliest clinically recognizable stage of Alzheimer's disease: a tale of shotgun lipidomics. *J. Neurochem.* **103 Suppl** (2007) 171–9
368. Fields, R. D., White matter in learning, cognition and psychiatric disorders. *Trends Neurosci.* **31** (2008) 361–70
369. Lutzenberger, W., Preissl, H. & Pulvermüller, F., Fractal dimension of electroencephalographic time series and underlying brain processes. *Biol. Cybern.* **73** (1995) 477–82
370. Khan, U. A. *et al.*, Molecular drivers and cortical spread of lateral entorhinal cortex dysfunction in preclinical Alzheimer's disease. *Nat. Neurosci.* **17** (2014) 304–11
371. Li, S.-J. *et al.*, Alzheimer Disease: evaluation of a functional MR imaging index as a marker. *Radiology* **225** (2002) 253–9
372. Allen, G. *et al.*, Reduced hippocampal functional connectivity in Alzheimer disease. *Arch. Neurol.* **64** (2007) 1482–7
373. Liu, Y. *et al.*, Impaired Long Distance Functional Connectivity and Weighted Network Architecture in Alzheimer's Disease. *Cereb. Cortex* (2013)
doi:10.1093/cercor/bhs410
374. McKee, A. C. *et al.*, Visual association pathology in preclinical Alzheimer disease. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* **65** (2006) 621–30
375. Frings, L., Spehl, T. S., Weber, W. A., Hüll, M. & Meyer, P. T., Amyloid- β load predicts medial temporal lobe dysfunction in Alzheimer dementia. *J. Nucl. Med.* **54** (2013) 1909–14
376. Fernández, A. *et al.*, Magnetoencephalographic parietal delta dipole density in mild cognitive impairment: preliminary results of a method to estimate the risk of developing Alzheimer disease. *Arch. Neurol.* **63** (2006) 427–30
377. Stomrud, E. *et al.*, Slowing of EEG correlates with CSF biomarkers and reduced cognitive speed in elderly with normal cognition over 4 years. *Neurobiol. Aging* **31** (2010) 215–23
378. Jack, C. R. *et al.*, Serial PIB and MRI in normal, mild cognitive impairment and Alzheimer's disease: implications for sequence of pathological events in Alzheimer's disease. *Brain* **132** (2009) 1355–65

-
379. Jagust, W. J. & Mormino, E. C., Lifespan brain activity, β -amyloid, and Alzheimer's disease. *Trends Cogn. Sci.* **15** (2011) 520–6
380. Carrera, E. & Tononi, G., Diaschisis: past, present, future. *Brain* **137** (2014) 2408–22
381. Garcia-Marin, V. *et al.*, Diminished perisomatic GABAergic terminals on cortical neurons adjacent to amyloid plaques. *Front. Neuroanat.* **3** (2009) 28
382. Musiek, E. S. & Holtzman, D. M., Three dimensions of the amyloid hypothesis: time, space and 'wingmen'. *Nat. Neurosci.* **18** (2015) 800–806
383. Sheline, Y. I. & Raichle, M. E., Resting state functional connectivity in preclinical Alzheimer's disease. *Biol. Psychiatry* **74** (2013) 340–7
384. Jagust, W., Time for tau. *Brain* **137** (2014) 1570–1
385. Fornito, A., Zalesky, A. & Breakspear, M., The connectomics of brain disorders. *Nat. Rev. Neurosci.* **16** (2015) 159–172
386. Baker, M., First results from psychology's largest reproducibility test. *Nature* (2015) doi:10.1038/nature.2015.17433

Artículos del Autor

- Early synaptic disruption precedes neurodegeneration in cognitively intact elders with significant amyloid load. A PiB PET-MEG study. In preparation.
- Amyloid and magnetic source imaging in the preclinical and prodromal stages of Alzheimer's disease. In preparation.
- Kort N.S., Cuesta P., Houde J.F., Nagarajan S.S. "Inter-hemispheric communication coordinates vocal feedback control". Submitted.
- Fernando Maestú, Jose-Maria Peña, Pilar Garcés, Santiago González, Ricardo Bajo, Anto Bagic, Pablo Cuesta, Michael Funke, Juan García-Prieto, Jyrki P. Mäkelä Ernestina Menasalvas, Aki Nakamura, Lauri Parkkonen, Maria E López, Alberto Marcos, Francisco del Pozo, Gustavo Sudre, Edward Zamrini, Eero Pekkonen, Rik Henson, James T. Becker. "Multicenter Study of the Early Detection of Synaptic Dysfunction in Mild Cognitive Impairment using Magnetoencephalography-derived Functional Connectivity". Submitted.
- Correas A, Rodriguez-Holguín S, Cuesta P, López-Caneda E, García-Moreno LM, Cadaveira F, Maestú F. "Exploratory Analysis of Quantitative and Functional Connectivity during Resting State in young binge drinkers. A Magnetoencephalography study". International Journal of Neural Systems. March 2015.
- Pablo Cuesta, Pilar Garcés, Nazareth P. Castellanos, ME López, Sara Aurtenetxe, Ricardo Bajo, José Pineda, Ricardo Bruña, Antonio García Marín, Marisa Delgado, Ana Barabash, Inés Ancín, Jose Antonio Cabranes, Alberto Fernandez, Francisco del Pozo, Miguel Sancho, Alberto Marcos, Akinori Nakamura, Fernando Maestú. "Influence of the APOE $\epsilon 4$ allele and MCI diagnosis in the disruption of the MEG resting state functional connectivity in sources space". Journal of Alzheimer Disease. October 2014.
- Cuesta P, Barabash A, Aurtenetxe S, Garcés P, López ME, Bajo R, Llanero-Luque M, Ancín I, Cabranes A, Marcos A, Sancho M, Nakamura A, Maestu F, Fernandez A. "Source Analysis of Spontaneous Magnetoencephalographic Activity in Healthy Aging and Mild Cognitive Impairment: Influence of Apolipoprotein E Polymorphism". Journal of Alzheimer Disease. May 2014.
- López ME, Aurtenetxe S, Pereda E, Cuesta P, Castellanos N.P, Bruña R, Niso G, Maestú F, and Bajo R. "Cognitive reserve is associated with the functional organization of brain networks in healthy aging: A MEG Study". Frontiers in Aging Neuroscience. May 2014.
- Pineda J, Garcés P, López ME, Aurtenetxe S, Cuesta P, Marcos A, Montejo P, Yus M, Tamames JA, del Pozo F, Becker JT, Maestú F. "White matter damage disorganizes brain functional networks in amnesic Mild Cognitive Impairment". Brain Connectivity. March 2014. PMID: 24617580.

- López M.E. †, Garcés P. †, Cuesta P, Castellanos P.N., Aurtenetxe S., Bajo R., Marcos A., Montenegro M., Yubero R., del-Pozo F., Sancho M., Maestú F. MEG Synchronization during an Internally Directed Cognitive State in healthy aging and Mild Cognitive Impairment. *Age*. March 2014. PMID: 24658709.
- Cuesta P †, López ME †, Garcés P, Castellanos P.N., Aurtenetxe S., Bajo R., Marcos A., Delgado M., Montejo P. o Montenegro M., López J.L., Maestú F., Fernández A. "MEG spectral analysis in subtypes of Mild Cognitive Impairment". *Age*. January 2014. PMID: 24532390.
- Nazareth P. Castellanos, Elisa Rodríguez-Toscano, Javier García-Pacios, Pilar Garcés, Nuria Paúl, Pablo Cuesta, Ricardo Bajo, Francisco del-Pozo, Fernando Maestú. "Restoring of brain entropy and complexity after rehabilitation of traumatic brain injury". *Functional Neurology, Rehabilitation, and Ergonomics*. 203-214, 2012.
- David del Río, Pablo Cuesta, Ricardo Bajo, Javier García-Pacios, Nazareth P. Castellanos, Ramón López-Higes, Francisco del-Pozo, Fernando Maestú. "Efficiency at Rest: Magnetoencephalographic Resting-State Connectivity in the Alpha Band and Individual Differences in Verbal Working Memory". *International journal of psychophysiology*. August 2012. PMID: 22940641.
- James T. Becker, Pablo Cuesta, Melissa Fabrizio, Gustavo Sudre, Emanuel Vergis, Antoine Douaihy, Ricardo Bajo, Allie Schubert, Oscar L. Lopez, Lauri Parkkonen, Fernando Maestu, Anto Bagic. Brain structural and functional recovery following initiation of combination antiretroviral therapy. *Journal of neurovirology*. June 2012. PMID: 22692914.
- Bajo R, Castellanos NP, Cuesta P, Aurtenetxe S, Gil-Gregorio P, del-Pozo F, Maestú F. "Differential patterns of functional connectivity in Progressive and Stable Mild Cognitive Impairment subjects". *Brain Connectivity*. March 2012. PMID: 22458376.
- James T. Becker, Ricardo Bajo, Melissa Fabrizio, Gustavo Sudre, Pablo Cuesta, Anna Haridis, Timothy Ambrose, Howard J. Aizenstein, Oscar L. Lopez, David Wolk, Lauri Parkkonen, Fernando Maestu, Anto Bagic. "Neuronal Functional Connectivity Measured with Magnetoencephalography Identifies Persons with HIV Disease". *Brain Imaging and Behaviour*. February 2012. PMID: 22328062.
- Nazareth P. Castellanos, Ricardo Bajo, Pablo Cuesta, José Antonio Villacorta-Atienza, Nuria Paúl, Juan Garcia-Prieto, Francisco del-Pozo and Fernando Maestú. Alteration and reorganization of functional networks: a new perspective in brain injury study. *Frontiers in Human Neuroscience*. August 2011. PMID: 21960965.
- Castellanos NP, Leyva I, Buldú JM, Bajo R, Paúl N, Cuesta P, Ordóñez VE, Pascua CL, Boccaletti S, Maestú F, Del-Pozo F. "Principles of recovery from traumatic brain injury: reorganization of functional networks.". *Neuroimage*. December 2010. PMID: 21195199.

